

**Reproduktion und Reproduktionslenkung von *Varroa destructor* (Anderson & Trueman 2000) in Drohnen- und Arbeiterinnenbrut von Bienenvölkern (*Apis mellifera* L.) unterschiedlicher Herkunft**



**Diplomarbeit**

der Landesanstalt für Bienenkunde

vorgelegt von

**Richard Odemer**

im Studiengang Agrarbiologie

Stuttgart Hohenheim

Februar 2009

---

## **Selbstständigkeitserklärung**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Diplomarbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und erlaubten Hilfsmittel benutzt habe. Weiter erkläre ich, die Diplomarbeit in gleicher oder ähnlicher Form keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt zu haben.

.....  
Ort, Datum, Unterschrift

---

## **Danksagung**

Besonderen Dank schulde ich Herrn Dr. Peter Rosenkranz, der mich durch seine engagierte Betreuung und stete Diskussionsbereitschaft mit vielseitigen Denkanstößen bereicherte und bei der Erstellung dieser Arbeit unterstützt hat.

Bei Herrn Prof. Dr. Werner Bessei bedanke ich mich für die Zweitkorrektur der Diplomarbeit.

Des Weiteren danke ich Eva Frey für ihre vielen guten Ratschläge und ihre ständige Hilfsbereitschaft während des Versuchszeitraumes und darüber hinaus.

Ich danke Prof. Dr. Ingemar Fries, Åke Lyberg und Barbara Locke für ihre Gastfreundschaft und für den angenehmen Aufenthalt in Schweden.

Nicht zuletzt möchte ich denen danken, die mir durch ihre fortwährende Unterstützung diese Arbeit ermöglichten und sie mit Anteilnahme verfolgt haben.

---

## Inhaltsverzeichnis

Selbstständigkeitserklärung .....	II
Danksagung.....	III
Inhaltsverzeichnis .....	IV
Abkürzungsverzeichnis.....	VII
<b>1 Einleitung .....</b>	<b>1</b>
1.1 Allgemeines .....	1
1.2 Schädigung durch <i>Varroose</i> .....	1
1.3 Jahreszeitlicher Verlauf und Verbreitung der Krankheit .....	2
1.4 <i>Varroa</i> -Reproduktion.....	3
1.5 Parasit-Wirt-Koevolution.....	6
1.6 <i>Varroa</i> -Toleranz .....	7
1.7 Zielsetzung.....	8
<b>2 Material und Methoden .....</b>	<b>10</b>
2.1 Standorte .....	10
2.2 Völkerführung.....	11
2.3 Tiermaterial.....	11
2.3.1 Bienen.....	11
2.3.2 Milben.....	12
2.4 Ermittlung von Fertilitätsrate und Fekundität.....	12
2.4.1 Arbeiterinnenbrut .....	13
2.4.2 Drohnenbrut.....	13
2.5 Aktivierung der <i>Varroa</i> -Reproduktion .....	15
2.6 Einsetzversuch mit larvalen Duftstoffen.....	16
2.6.1 Larvenextrakte .....	16

---

2.6.2	Einsetzen mit Larvenextrakt.....	17
2.7	Statistische Auswertung.....	17
<b>3</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>18</b>
3.1	<i>Varroa</i> -Reproduktion.....	18
3.1.1	Arbeiterinnenbrut .....	18
3.1.2	Drohnenbrut.....	20
3.2	Aktivierung der <i>Varroa</i> -Reproduktion .....	22
3.3	Einsetzversuch mit larvalen Duftstoffen.....	23
3.4	Vergleichende Darstellung der Einsetzversuche .....	24
<b>4</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>25</b>
4.1	Methodenkritik.....	25
4.1.1	Probennahme .....	25
4.1.2	<i>Varroa</i> -Reproduktion .....	25
4.1.3	Einsetzversuch mit larvalen Duftstoffen .....	26
4.2	<i>Varroa</i> -Fertilität im Vergleich.....	27
4.3	Aktivierung der <i>Varroa</i> -Reproduktion im Biotest.....	29
4.4	Schlussfolgerung.....	32
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>35</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>37</b>
<b>7</b>	<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>43</b>
<b>8</b>	<b>Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>45</b>
<b>9</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>47</b>
9.1	Rohdaten <i>Varroa</i> -Reproduktion .....	47
9.1.1	Fertilität Drohnen Einfachbefall.....	47
9.1.2	Anzahl der Nachkommen Drohnen .....	50

---

9.1.3	Fertilität Arbeiterinnen .....	53
9.1.4	Anzahl der Nachkommen Arbeiterinnen.....	56
9.2	Einsetzversuche .....	60
9.2.1	Aktivierung der Reproduktion.....	60
9.2.2	Einsetzen mit larvalen Duftstoffen.....	61

---

## Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
µl	Mikroliter
Abb.	Abbildung bzw. Abbildungen
AHB	Africanized Honey Bee
ANOVA	Analysis of variance (Varianzanalyse)
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
DIN	Deutsches Institut für Normung e. V.
engl.	englisch
et al.	et alii (und andere)
EHB	European Honey Bee
evtl.	eventuell
F <sub>2</sub>	Zweite Filialgeneration
h	Stunde
km	Kilometer
LAB	Landesanstalt für Bienenkunde
LCD	Liquid Crystal Display
Leq	Larval equivalent (Larvenäquivalent)
m	Meter
min	Minute
ml	Milliliter
MW	Mittelwert
NK	Nachkommen
n.s.	nicht signifikant
o.g.	oben genannte(n)
persönl.	persönlich
sog.	sogenannt
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
STABW	Standardabweichung (±)
Tab.	Tabelle
Vol.	Volumen
W	Watt

# 1 Einleitung

## 1.1 Allgemeines

Die Einführung der parasitischen Bienenmilbe *Varroa destructor* in Deutschland und Europa ab den späten Siebzigerjahren geschah zunächst durch die weltweite Verbreitung der europäischen Honigbiene *Apis mellifera*. Der Import nach Asien hatte zur Folge, dass *V. destructor* von ihrem ursprünglichen Wirt *Apis cerana* auf *A. mellifera* wechselte. Weiträumige Bientransporte haben schließlich zur globalen Verbreitung des Parasiten beigetragen (ANDERSON & TRUEMAN, 2000).

*V. destructor* hat die imkerliche Arbeit mit der europäischen Honigbiene bis heute stark geprägt. So ist ihre Bekämpfung nach wie vor eine der größten Herausforderungen in der modernen Imkerei. Ohne eine entsprechende Behandlung gegen die *Varroose*, wie der Parasitenbefall genannt wird, sind selbst starke Bienenvölker nicht in der Lage längerfristig zu überleben. Ein wirtschaftliches Imkern wäre ohne Behandlung nicht möglich (DE JONG, et al., 1982).

## 1.2 Schädigung durch *Varroose*

Da sich die Milbe nur in den Brutzellen entwickeln und reproduzieren kann, ist die *Varroose* in erster Linie eine Brutkrankheit. In der befallenen Zelle ernähren sich alle Nachkommen von der Hämolymphe der Larve bzw. später von der Puppe (Abb. 1). Die dadurch entstehenden Verletzungen bieten Eintrittsmöglichkeiten für Mikroorganismen wie Bakterien und Viren, welche zu schwerwiegenden Sekundärinfektionen der Biene führen können. Eine Schädigung entsteht also nicht nur durch Verlust von Hämolymphe und die daraus resultierende reduzierte Lebenserwartung, sondern auch durch Infektionen der parasitierten Biene, wie z.B. mit dem *Deformed Wing Virus* (FUJIYUKI, 2004; YUE & GENERSCH, 2005).



**Abbildung 1:** *V. destructor* auf Drohnenpuppe



**Abbildung 2:** Phoretische *V. destructor* auf adulter Arbeiterbiene

Dieses Virus wird als Ursache für Missbildungen von Flügel und Abdomen diskutiert, die häufig bei adulten Bienen in *Varroa* befallenen Völkern auftreten. Die Symptome der Erkrankung sind neben verkrüppelten Extremitäten und stummeligen, nicht zu gebrauchenden Flügeln, ein verkürztes, rundliches Abdomen und Paralyse. Bienen, die solche Symptome zeigen, haben eine drastisch verkürzte Lebenserwartung, die für gewöhnlich nicht länger als 48 h beträgt. Sie werden nach dem Schlüpfen von nicht infizierten Arbeiterinnen gezielt aus dem Volk vertrieben. Die Milbe ist der bedeutendste Vektor für diese Erkrankung (YANG & COX-FOSTER, 2005).

### 1.3 Jahreszeitlicher Verlauf und Verbreitung der Krankheit

Im Verlauf des Sommers steigt die Befallsrate im Verhältnis zur zunehmenden Zahl der Bienenbrut annähernd exponentiell an. Im Spätsommer hat die Milbendichte ihr Maximum erreicht, mit der Folge, dass ein großer Anteil an herangezogenen Winterbienen infiziert ist. Unter diesen Voraussetzungen ist es für das Bienenvolk nahezu unmöglich, den kommenden Winter zu überstehen (CALIS, et al., 1999).

Es entstehen massive Schädigungen bis hin zu einem völligen Zusammenbruch der Bienenvölker. Die Kombination aus Milbenbefall und Sekundärinfektion führt zu einer gebremsten Volksentwicklung im Frühjahr, diese Schwächung geht sehr rasch von statten (KOVAC & CRAILSHEIM, 2006).



**Abbildung 3:** Missbildungen an Flügel und Extremitäten



**Abbildung 4:** Deformiertes Abdomen und missgebildete Flügel einer Arbeiterin

Die *Varroose* verbreitet sich von Bienenvolk zu Bienenvolk, d.h. es reicht aus wenn ein Volk des Bestandes befallen ist, um auch naheliegende milbenfreie Völker zu infizieren. Eine Invasion der gesunden Völker geschieht meist über aufgenommene Drohnen, verflogene Bienen oder Räuberei. Ein weiterer, nicht zu vernachlässigender Faktor ist das „Wandern“ der Bienenvölker in trachtreichere Gebiete. Viele europäische Imker stehen aufgrund der vorherrschenden monotonen Kulturlandschaft unter diesem Wanderzwang. Für eine weiträumige und flächendeckende Verbreitung von *V. destructor* ist dies überaus zuträglich (BÜCHLER & HOFMANN, 1991; RENZ, 2003).

#### 1.4 *Varroa*-Reproduktion

Das adulte Milbenweibchen ist ca. 1,6 mm groß und ist ein obligater Ektoparasit. In der phoretischen Phase findet man sie auf ihrem Wirt aufsitzend (Abb. 2), bereit in eine kurz vor der Verdeckelung stehende Brutzelle einzudringen. Hierzu werden gezielt Ammenbienen als Transportmittel gewählt (DONZÉ, et al., 1998). Brutzellen der Arbeiterinnen werden etwa 15-20 h, die der Drohnen etwa 40-50 h vor der Verdeckelung befallen (CALDERONE, et al., 2002). Die Milben bevorzugen dabei Drohenbrut acht Mal häufiger als Arbeiterinnenbrut (FUCHS, 1990).

In der Zelle dringt das Weibchen in den Futtersaft der Bienenlarve ein, welcher die Milbe bis 6 h nach Verdeckelung gefangen hält. Erst nach der Zellverdeckelung, wenn die Larve genügend Futter aufgenommen hat, kommt das Milbenweibchen wieder frei und beginnt, Hämolymphe zu saugen (IFANTIDIS, 1988).

Die Milbe wechselt nun von der phoretischen in die reproduktive Phase und beginnt mit der Oogenese und der Eiablage. Das erste Ei ist männlich determiniert und wird ca. 60 h nach Verdeckelung gelegt. Darauf hin folgen alle 30 h weitere, jeweils weiblich determinierte Eier (REHM & RITTER, 1989). Die Nachkommen reifen noch in der Zelle zu adulten Milben heran und werden vom einzigen Männchen begattet. Mit dem Schlupf der Arbeiterin nach ca. 21 bzw. dem Drohn nach ca. 23 Tagen, verlässt auch der Parasit die Zelle. Die bis dahin noch unreifen, unbefruchteten sowie männlichen Nachkommen von *V. destructor* sterben ab (DONZÉ, et al., 1998).

Auffällig ist, dass ein bestimmter Prozentsatz der in die Zellen eingedrungenen Milbenweibchen nicht reproduziert (STÜRMER & ROSENKRANZ, 1994). Dies bedeutet jedoch nicht zwangsläufig, dass es infertil ist. Es wurde gezeigt, dass diese Milben in der Lage waren, wieder zu reproduzieren sobald sie erneut in eine Zelle eingesetzt wurden (DE RUIJTER, 1987; WELLER, 2008). Die Bedingungen unter welchen die Milbe sich entscheidet, nicht zu reproduzieren, sind allerdings noch nicht vollständig geklärt (GARRIDO & ROSENKRANZ, 2003).

GARRIDO & ROSENKRANZ (2003) konnten außerdem zeigen, dass die Oogenese und damit der Reproduktionszyklus durch larvale Duftstoffe aktiviert werden. Welche Regulationsmechanismen die Reproduktionskaskade dann weiter steuern ist nicht geklärt. Es wird angenommen, dass Wirtsfaktoren in der Hämolymphe ein Bindeglied zwischen Aktivierung und Fortsetzung der Oogenese darstellen. Weitere Einzelheiten im Verlauf der Eireifung des Milbenweibchens sind derzeit nur teilweise beschrieben und bedürfen, als möglichen Ansatzpunkt der Bekämpfung, weiterer Erforschung (GARRIDO & ROSENKRANZ, 2004).

Seitens der Reproduktionssteuerung von *V. destructor* konnte ein Einfluss des Juvenilhormons III (JH III) des Wirtes von ROSENKRANZ, et al. (1993) ausgeschlossen werden. Sowohl bei den milbentoleranten Bienen *A. cerana* als auch bei *A. mellifera* fanden sich keine signifikanten Unterschiede in der JH III Konzentration. Außerdem erreichte der Hormontiter erst am 2. Tag bzw. am 4. Tag nach der Zellverdeckelung bei Arbeiterinnen- bzw. Drohnenbrut sein Maximum. Da die Oogenese von *V. destructor*

viel früher aktiviert werden musste, widerlegte dies die Hypothese, dass die Reproduktion durch dieses Wirtshormon gesteuert werde. Zudem konnte bestätigt werden, dass die Milbe bei *A. cerana* nur in Drohnenbrut zur Reproduktion fähig ist.

Die teilweise Infertilität von *Varroa*-Weibchen nach dem Eindringen in eine Brutzelle wird von ROSENKRANZ & ENGELS (1994) als wirtsspezifischer Toleranzfaktor gegen *Varroose* diskutiert. In Vergleichstests zwischen europäischen Honigbienen (EHB) und der in Brasilien beheimateten afrikanisierten Honigbiene (AHB) ist erstmals eine Toleranz gegen *Varroose* beschrieben worden. Solch eine Toleranz von *A. mellifera* war seither nur von *A. cerana* bekannt. Die Infertilitätsrate lag bei den EHB bei 10-20 % in Arbeiterinnenbrut, die AHB wurde mit über 50 % Infertilität dokumentiert (GARRIDO, 2004). Im Laufe der Zeit hat sich die Situation in Brasilien jedoch geändert und die über Jahrzehnte lang konstante Milbenfertilität von *V. destructor* unterscheidet sich nicht mehr von der bei europäischen Honigbienen (ROSENKRANZ, 1999). Eine Behandlung der afrikanisierten Bienen gegen *Varroose* ist aus bisher ungeklärten Gründen dennoch nicht notwendig.

GARRIDO & ROSENKRANZ (2003) zeigten in einem Transferexperiment, dass sowohl die Geschlechtsdetermination als auch die Reproduktion bei *V. destructor* durch Wirtssignale gesteuert werden müssen. Dazu wurden Milbenweibchen, die bereits reproduziert hatten, aus verdeckelten Arbeiterinnenzellen entnommen und in frisch verdeckelte Zellen mit L5 Larven eingesetzt. Der Reproduktionszyklus startete von Neuem indem 77 % der Milben mit der Ablage eines männlich determinierten Eies begannen. Wurden die Weibchen hingegen in Zellen eingesetzt, die bereits einen zur Puppe entwickelten Wirt beinhalteten, legten nur 6 % ein männliches Ei.

Diese Umstände legten nahe, dass Wirtssignale unmittelbar mit der Aktivierung der Oogenese in Verbindung standen. GARRIDO & ROSENKRANZ (2004) führten dazu Laborversuche durch, die die Bedeutung der larvalen Duftstoffe als Trigger für die *Varroa*-Oogenese bestätigten. Mit einem Biotest konnte gezeigt werden, dass nicht nur die lebendige L5 Larve eine Aktivierung auslöste, sondern auch ein Extrakt dieser Larven mit Pentan. Dabei gab es keinen signifikanten Unterschied im Anteil aktivierter

terminaler Oocyten zwischen Larve und Extrakt. Somit ist die Aktivierung der Reproduktion eindeutig auf volatile cuticuläre Substanzen zurückzuführen. TOULLIER & MILANI (1999) arbeiteten ebenfalls mit Larvenduftstoffen, die sie zuvor jedoch fraktioniert hatten. Sie fanden nach der Behandlung der Wirtslarve mit der polaren Fraktion des Extrakts eine höhere Reproduktion der *Varroa*-Weibchen vor. Die unpolare Fraktion hingegen hatte keinen Einfluss auf die Eiablage. Schließlich wurde auch von GARRIDO (2004) eine Auftrennung des Extrakts mittels Festphasenextraktion vorgenommen. Die polare Fraktion aktivierte dabei die Reproduktion in ähnlichem Maße wie der Gesamtextrakt. Dies bestätigt, dass sich die aktivierenden Substanzen für die Oogenese in der polaren Fraktion befinden.

### **1.5 Parasit-Wirt-Koevolution**

Die wünschenswerteste und nachhaltigste Alternative zur Behandlung wäre eine natürliche Resistenz bzw. Toleranz unserer Honigbiene gegenüber *V. destructor*.

Vorbild ist die östliche Honigbiene *A. cerana*, der ursprüngliche Wirt von *V. destructor*. Sie zeigt verschiedene Anpassungen, die den Vermehrungserfolg der Milbe stark einschränken. So kann sich der Parasit dort beispielsweise nur in Drohnenbrut erfolgreich vermehren (KOENINGER, et al., 1981; DE JONG, 1988). Befallene Drohnenbrutzellen werden ausfindig gemacht und aufgefressen oder ausgeräumt. Mehrfachbefallene Zellen werden regelrecht „eingesargt“, d.h. die infizierte Larve samt *Varroa*-Milben werden in der Brutzelle dauerhaft eingeschlossen (RATH, 1999). Oft werden auch phoretische Milben, die auf den Arbeiterinnen sitzen, entdeckt und durch soziales Putzen, sog. „Grooming“ direkt beseitigt (PENG, et al., 1987).

Durch diese Anpassungen befindet sich die Parasit-Wirt-Beziehung in einem stabilen Gleichgewicht und das Bienenvolk trägt durch den Milbenbefall keinen Schaden davon (ANDERSON, 1994). Bei den Bienenrassen der europäischen Honigbiene fehlen diese Eigenschaften ganz oder sind nur ansatzweise vorhanden. Die Tatsache, dass *V. destructor* bei unserer heimischen Biene auch in Arbeiterinnenbrut reproduzieren kann, maximiert deren Reproduktionserfolg und mindert die Überlebenschancen der Bienenvölker (CALIS, et al., 1999).

In der Vergangenheit wurden bereits mehrere Versuche unternommen, Bienenvölker der europäischen Honigbiene auf o.g. Anpassungen hin zu selektieren und gezielt zu vermehren (HARBO & HARRIS, 2001, 2005). Zudem wurde auch über natürliche Selektion versucht, dieses Ziel zu erreichen (FRIES, et al., 2006; LE CONTE, et al., 2007; SEELEY, 2007).

### **1.6 Varroa-Toleranz**

Mit dem „Bond Projekt“ konnten FRIES, et al. (2006) zeigen, dass eine isolierte Population von *A. mellifera* auf der schwedischen Insel Gotland durch natürliche Selektion in der Lage ist, den Befall von *V. destructor* über acht Jahre ohne Behandlung zu überstehen. Dies deutet auf Anpassungen hin, die ein Überleben des Wirtes mit dem Parasiten ermöglichen. Auch SEELEY (2007) berichtet von einer isolierten Population, jedoch wilder Honigbienen im Arnot Forest, New York State, USA. Diese besteht schon mehrere Jahrzehnte ohne *Varroa*-Behandlung. Ein Vergleich dieser Völker mit einer Carnica Kontrollgruppe ergab allerdings keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich eventueller Unterdrückung der Reproduktion von *V. destructor*. Seeley vermutet, dass das stabile Parasit-Wirt-Verhältnis auf einen weniger virulenten *Varroa*-Genotyp zurückzuführen ist. In Frankreich haben LE CONTE, et al. (2007) ebenfalls Bienenvölker untersucht, die durchschnittlich 6,5 Jahre ohne Behandlung überlebt haben. Auffällig war der signifikant geringere Honigertrag dieser Völker im Vergleich zur behandelten Kontrollgruppe.

Laut HARRIS & HARBO (2000) ist die unterdrückte Reproduktion von *V. destructor* ein erbliches Merkmal bei *A. mellifera* und ein wichtiger Faktor für die *Varroa*-Toleranz. Sie stellten eine erhöhte Toleranz in bestimmten Zuchtlinien fest und begannen damit Völker auf diesen Faktor hin zu selektieren. Die Toleranz wurde zunächst auf eine Senkung der Reproduktionsrate bei den *Varroa*-Milben zurückgeführt (small mite reproduction). Nach weiteren Jahren gezielter Züchtung, vermuteten HARBO & HARRIS (2005) schließlich, dass ein ausgeprägtes Hygieneverhalten der SMR Bienen wahrscheinlicher sei. Die Zuchtlinien waren offensichtlich in der Lage Brutzellen zu erkennen und auszuräumen, die von reproduzierenden Milbenweibchen befallen waren.

Bei einem Vergleich dieser vorselektierten Linien mit einer Kontrolle zeigte WELLER (2008) jedoch, dass die SMR Gruppe nicht das halten konnte, was den Imkern seitens ihrer Züchter (HARBO & HARRIS, 2005) versprochen wurde. Es konnte weder ein ausgeprägtes Hygieneverhalten bestätigt werden noch konnten die Bienen den Milbenbefall deutlich niedriger halten als die Kontrollvölker. Die aus natürlicher Selektion hervorgegangene Gruppe aus dem „Bond Projekt“ auf Gotland zeigte zwar einen geringeren Zuwachs der *Varroa*-Population im Volk, wies aber hinsichtlich der Milbenreproduktion kaum Unterschiede zur Kontrollgruppe auf. Die Werte der Fertilitätsraten bei Drohnen- und Arbeiterinnenbrut lag in allen drei untersuchten Gruppen zwischen 92 und 98 %. Bei der Anzahl der Milbennachkommen sind Werte von 4,4 bis 4,8 in Drohnenbrut bzw. 3,2 bis 4,2 in Arbeiterinnenbrut festzuhalten. Diese Zahlen decken sich mit Ergebnissen aktueller und früherer Untersuchungen an *A. mellifera* Völkern (ROSENKRANZ & ENGELS, 1994; MILANI, et al., 2004).

## 1.7 Zielsetzung

Für das weitere Verständnis der *Varroa*-Reproduktion sollen in dieser Arbeit unterschiedliche *A. mellifera* Völker vergleichend betrachtet werden. Zudem soll die Aktivierung der *Varroa*-Reproduktion durch Larvenduftstoffe in einem neuen Biotest *in situ* bestätigt werden.

- Hierzu sollen Drohnen- und Arbeiterinnenbrut vier verschiedener *A. mellifera* Herkünfte hinsichtlich Fertilität und Fekundität von *V. destructor* untersucht werden. Dazu gehören *A. m. carnica* Kontrollvölker aus der lokalen Hohenheimer Zuchtlinie, eine Kreuzung von Bienen aus dem „Bond Projekt“ auf Gotland mit der lokalen Hohenheimer Zucht in der zweiten Filialgeneration, sowie *A. m. mellifera* und *A. m. ligustica* Völker aus Reinzuchten.
- Diese neu gewonnenen Reproduktionsdaten sollen mit alten Daten verglichen und hinsichtlich einer Zu- oder Abnahme der Fertilität von *V. destructor* betrachtet werden.
- Es soll festgestellt werden, in welchem Zeitraum die *Varroa*-Reproduktion nach der Zellverdeckelung noch durch Wirtssignale aktiviert werden kann. Dazu sollen in verschiedenen Zeitabständen nach der Verdeckelung

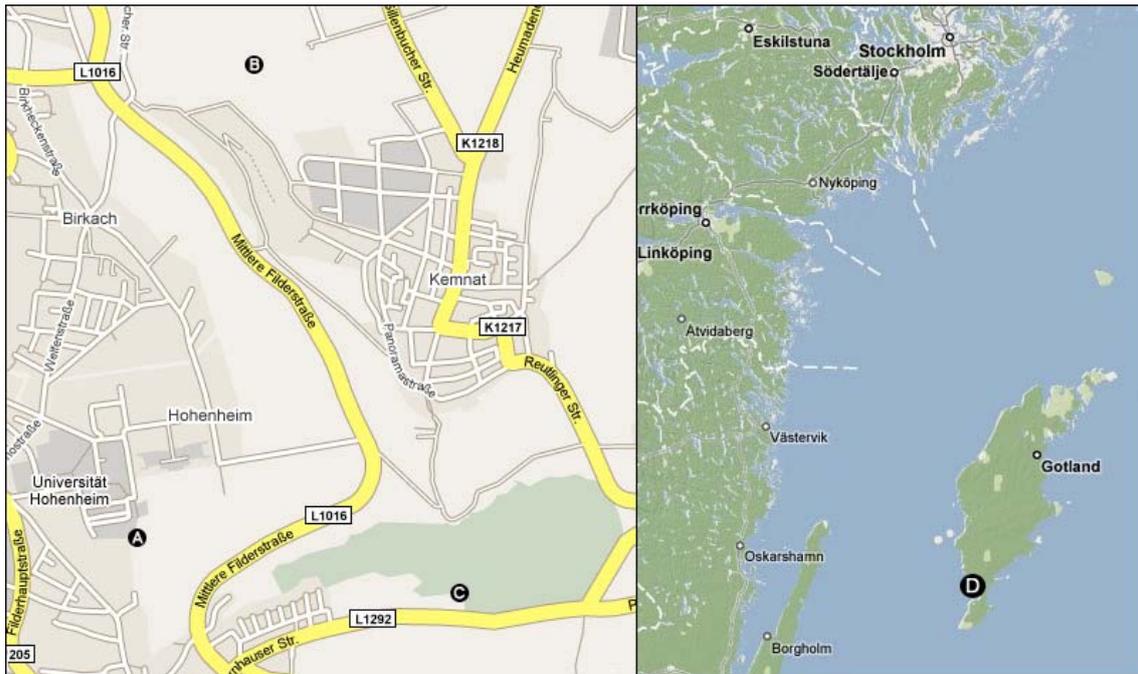
Arbeiterinnenbrutzellen künstlich mit *Varroa*-Milben infiziert und ausgewertet werden.

- Ergänzend soll in einem neuen Biotest bestätigt werden, dass die *Varroa*-Reproduktion durch Duftstoffe der frisch verdeckelten Bienenlarve im Volk selbst aktiviert werden kann. Dazu müssen die aktivierenden Stoffe extrahiert werden und zusammen mit einem *Varroa*-Weibchen künstlich in eine bereits verdeckelte Brutzelle eingesetzt werden.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Standorte

Die Hohenheimer Versuchsvölker waren während des Untersuchungszeitraums an unterschiedlichen Standorten (Abb. 5) aufgestellt.



**Abbildung 5:** Geografische Lage der Versuchsvölker

Standort A zeigt die Landesanstalt für Bienenkunde an der Universität Hohenheim, im Weiteren als LAB bezeichnet, Standort B zeigt den Kurrenwald nahe Kemnat (Ostfildern) und Standort C zeigt den Waldrand zwischen Plieningen und Scharnhäusern (Ostfildern). Der Radius in dem sich die Standorte befinden beträgt ca. 1,5 km. Es herrschten während der Untersuchungen gute Trachtverhältnisse und es musste kein Futterteig oder Zuckersirup zugefüttert werden.

Der vierte Standort (D) befindet sich an der Südspitze der Insel Gotland (Schweden) in der Ostsee. Auch hier waren die Trachtverhältnisse gut und es musste nicht zugefüttert werden (FRIES, et al., 2006).

## 2.2 Völkerführung

Die Bienenvölker in Deutschland standen während der Versuche unter Betreuung einer ausgebildeten Tierwirtin der Fachrichtung Imkerei und wurden in der Hohenheimer Einfachbeute gehalten (Zandermaß, Kaltbau).

In der Schwarmzeit von Mai bis Juli fanden wöchentliche Kontrollen auf mögliche Schwarmzellen statt, welche bei Vorhandensein gebrochen wurden. Ableger wurden mit zwei vollbesetzten Brutwaben aus dem Muttervolk, einer Futterwabe und zugesetzten Leerrähmchen mit Mittelwänden gemacht. Wachsende Völker hat man im Frühjahr mit einer Zarge mit Mittelwänden erweitert und bei Bedarf im Spätsommer wieder eingengt.

Die Völker auf Gotland wurden im Jahr 1999 als isolierte Population etabliert. Nach der Infektion mit *Varroa*-Milben wurden sie ohne imkerliche Eingriffe sich selbst überlassen und konnten schwärmen. Über mehr als sechs Jahre wurden die Völker dabei überwacht (FRIES, et al. 2006).

## 2.3 Tiermaterial

### 2.3.1 Bienen

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurden insgesamt 33 verschiedene Völker der westlichen Honigbiene (*A. mellifera*) untersucht. Dabei wurden verschiedene Herkünfte dieser Biene genauer betrachtet; *A. m. carnica* mit drei Versuchsvölkern aus einer lokalen Hohenheimer Zuchtlinie, *A. m. mellifera* mit sieben Versuchsvölkern von einem anerkannten Reinzüchter aus Süddeutschland, *A. m. ligustica* mit vier Versuchsvölkern aus einer Reinzucht aus Frankreich und sechs Völker mit F<sub>2</sub> Hybriden aus dem „Bond Projekt“. Die Kreuzung besteht aus einer Nachzucht von Königinnen aus einer über sechsjährigen natürlichen Selektion, die sich mit Drohnen aus der lokalen Hohenheimer Zuchtlinie (*A. m. carnica*) bis zur zweiten Filialgeneration (Go/F<sub>2</sub>) paaren konnten. Auf Gotland vor Ort wurden sieben Völker der Parentalgeneration (Go/P) untersucht (FRIES, et al., 2006).

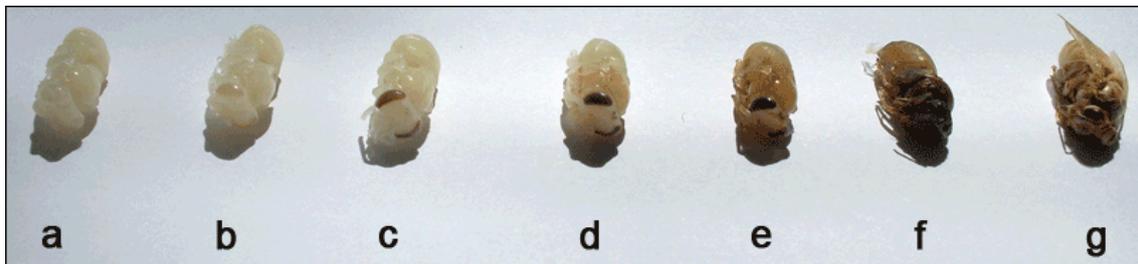
Für die Einsatzversuche und die Beprobung mit larvalen Duftstoffextrakten wurden ausschließlich *A. m. carnica* Völker aus der lokalen Hohenheimer Zucht verwendet.

Alle Völker waren zum jeweiligen Beprobungszeitpunkt weiselrichtig und zeigten keine Anzeichen von Krankheiten.

### 2.3.2 Milben

Phoretische Milbenweibchen der Art *V. destructor* wurden aus zuvor unbehandelten Versuchsvölkern gesammelt und in kleinen Kunststoffgefäßen bis zur Verwendung, aber nicht länger als 30 min, aufbewahrt. Zum Absammeln der Milben wurden Ammenbienen auf dem Brutnest optisch untersucht und bei *Varroa*-Befall mit einem Erlenmeyerkolben eingefangen. Anschließend wurden die Bienen für wenige Sekunden mit CO<sub>2</sub> (Kohlendioxid 3.5, 99,95 Vol. %, Sauerstoffwerk Friedrichshafen GmbH) betäubt, die Milben mit einer Insektennadel aufgenommen und in das Kunststoffgefäß umgesetzt. Um eine ausreichend hohe Luftfeuchtigkeit zu gewährleisten, wurde den Milben ein angefeuchtetes Papiertuch zugesetzt (GARRIDO & ROSENKRANZ, 2004). Der Reproduktionsstatus der gesammelten Milben war nicht bekannt.

### 2.4 Ermittlung von Fertilitätsrate und Fekundität



**Abbildung 6:** Unterschiedliche Arbeiterinnenpuppen (*A. m. ligustica*) nach dem Stadium der Entwicklung (Post-Verdeckelung) sortiert. a. Tag 3 (ww), b. Tag 4 (ww-bw), c. Tag 5 (bw), d. Tag 6 (bb1), e. Tag 8 (bb2), f. Tag 10 (bb3), g. Tag 12 (PA) Klassifizierung nach CZOPPELT & REMBOLD, 1970

Die Probenahme für Drohnen bzw. Arbeiterinnenbrut gestaltete sich bei allen fünf Linien nach demselben Verfahren. Die Brutwaben aus dem Versuchsvolk wurden stichprobenartig nach Puppen im Stadium von mehr als fünf Tagen nach Verdeckelung (Abb. 6: violette Augen und weißer Körper) durchsucht. In diesem Stadium hat die Milbe bereits ein bis zwei Eier abgelegt (IFANTIDIS, 1988). Nach der Entnahme einer

geeigneten Wabe wurden die einzelnen Zellen im Arbeitsraum unter Verwendung einer Kaltlichtleuchte (Schott KL 1500 LCD, 200 W) auf einfachen Milbenbefall hin untersucht und protokolliert (Abb. 7). Dabei wurde zuerst die Puppe entnommen und deren Entwicklungsstadium festgehalten. Sie wurde auf Kotflecken und auf aufsitzende Milben samt Nachkommen überprüft. Die Zelle wurde anschließend ausgeleuchtet und deren Inhalt bei Unklarheit unter dem Binokular betrachtet (Zeiss Stemi 2000-CS). Die unterschiedlichen Milbenstadien (Muttermilben, Eier, Proto- sowie Deutonymphen und männliche Nachkommen) und deren Anzahl wurden notiert. Als fertil galten Milbenweibchen, die mindestens ein Ei abgelegt hatten. Weibchen, bei denen keine Nachkommen gefunden wurden, galten als infertil. Um die Anzahl der Nachkommen zu errechnen, wurden nur Stadien nach dem 8. Tag (bb2) verwendet. Die Eiablage gilt dann als beendet (GARRIDO, 2004). Nicht aufgenommen wurden Zellen, in denen sich tote Milben befanden oder Zellen, die von der Großen Wachsmotte (*Galleria mellonella*) befallen waren.

#### **2.4.1 Arbeiterinnenbrut**

Die Untersuchung der Arbeiterinnenbrut in Deutschland fand im Zeitraum vom 07.08. bis 17.10.2008 statt. Die Studien in Gotland gingen vom 11.08. bis zum 14.08.2008. Pro Volk wurden mindestens 30 Zellen aufgenommen, welche einfach von Milben befallen waren.

#### **2.4.2 Drohnenbrut**

Um über eine ausreichende Anzahl an Drohnenbrut zu verfügen, wurden in die Versuchsvölker kurz nach der Auswinterung bis zu zwei gekennzeichnete Baurahmen (Rahmen ohne Mittelwände) zugehängt. Die Untersuchung der Drohnenbrut fand im Zeitraum vom 30.05. bis 08.08.2008 statt. Pro Volk wurden nach Möglichkeit 30 einfachbefallene Zellen aufgenommen.

### Reproduktionsprotokoll

Kontrolldatum:  
Volk Nr.:

Art der Brut:  
Bienenrasse:

Nr.	Puppe	Mutter	Eier	Proto	Deuto	Tochter	männl.	Kot a.P. <sup>1</sup>	Bem.
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
11									
12									
13									
14									
15									
16									
17									
18									
19									
20									
21									
22									
23									
24									
25									
26									
27									
28									
29									
30									

- |           |                              |            |                                      |
|-----------|------------------------------|------------|--------------------------------------|
| <b>S</b>  | Streckmade                   | <b>bb1</b> | braune Augen / leicht brauner Körper |
| <b>ww</b> | weiße Augen / weißer Körper  | <b>bb2</b> | braune Augen / brauner Körper        |
| <b>rw</b> | rote Augen / weißer Körper   | <b>bb3</b> | braune Augen / dunkelbrauner Körper  |
| <b>bw</b> | braune Augen / weißer Körper | <b>PA</b>  | pharate Adult (kurz v. Schlupf)      |

<sup>1</sup> Kot auf Puppe

Abbildung 7: Protokoll zur Aufnahme von Reproduktionsdaten

## 2.5 Aktivierung der *Varroa*-Reproduktion

Der Zeitraum, in dem *V. destructor* fähig ist, in Arbeiterinnenbrut zu reproduzieren, wurde durch künstliche Milbeninfektion ermittelt. Dazu wurden Brutzellen, die kurz vor Verdeckelung standen, mit einem wasserfesten Foliienstift auf transparenter Overheadfolie (Impega<sup>®</sup>, DIN A4) markiert. Nach 2-6 h wurde festgehalten, welche Zellen verdeckelt waren. Anschließend wurden zuvor gesammelte phoretische Milben in 6 h Intervallen in diese eingesetzt. Der Zeitraum der Intervalle umfasste 0 bis 30 h nach Zellverdeckelung. Für jedes Intervall wurden 30 Zellen ausgewertet.



Abbildung 8: Zelldeckel wird vorsichtig geöffnet

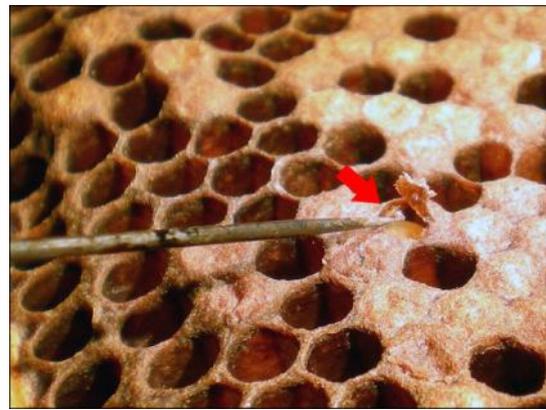


Abbildung 9: Einsetzen der Milbe (roter Pfeil)

Um die Milben in die Zelle einzusetzen, wurde der Zelldeckel mit einer Rasierklinge vorsichtig geöffnet (Abb. 8). Dann wurde die Milbe mit einer Insektennadel aufgenommen und in die Zelle abgestreift (Abb. 9). Das Kriterium ausreichender Vitalität der verwendeten Milben war, dass sie sich an der Nadel problemlos festhalten konnten und bei dem Versuch, sie behutsam abzuschütteln nicht herunterfielen. Der offene Zelldeckel wurde vorsichtig wieder angedrückt und bei Bedarf mit einem Fremddeckel zusätzlich verschlossen. Es wurde stets darauf geachtet, dass die Milbe nicht wieder aus der Zelle entweichen konnte.

Die Daten, die für die Auswertung aufgenommen wurden, entsprechen dem in Punkt 2.4 beschriebenen Schema. Die Kontrolle der Zellen erfolgte acht bis neun Tage nach der Präparation.

## 2.6 Einsetzversuch mit larvalen Duftstoffen

### 2.6.1 Larvenextrakte

Für die Extraktion benötigte Larven im L5 Stadium wurden in weitgehend milbenfreien Versuchsvölkern gesammelt. Arbeiterinnenbrutzellen wurden wie unter Punkt 2.5 markiert und im Falle einer Verdeckelung entnommen.

Die Präparation erfolgte durch Öffnen der Zelldeckel und behutsames Herausziehen der Larven mit einer weichen Federstahlpinzette (siehe Abb. 10 und 11).



**Abbildung 10:** Geöffneter Zelldeckel mit L5 Larve



**Abbildung 11:** Die Larve wird vorsichtig herausgezogen

Anschließend wurden die Larven auf ein saugfähiges Papiertuch gelegt, um eventuelle Verletzungen durch Austritt von Hämolymphe zu registrieren und um einen natürlichen Milbenbefall auszuschließen. Beschädigte und befallene Larven wurden verworfen und mögliche Wachs- oder Futterreste entfernt. Nach dieser Kontrolle wurden die Larven zu je zehn Stück in verschließbare Rundkolben gegeben. Die Extraktion erfolgte für 10 min bei Zimmertemperatur mit 5 ml Pentan (Uvasol, Roth GmbH), welches die Larven vollständig bedecken konnte (AUMEIER, et al., 2002). Nach angegebener Zeit wurde der Extrakt in ein Reagenzglas überführt und dort mit Stickstoff (Technische Qualität 4.6, 99,996 Vol. %, Sauerstoffwerke Friedrichshafen GmbH) auf ca. 1 ml eingengt. Um ungewollte Ausdunstung zu vermeiden, wurde der Extrakt in eine Gewindemikroflasche (1,1 ml) pipettiert und weiter auf 4  $\mu$ l eingengt, sodass sich in 1  $\mu$ l Extrakt ca. 2,5 Larvenäquivalente befunden haben. Der Extrakt wurde entweder sofort weiter verwendet oder bei -20 °C im Gefrierschrank aufbewahrt.

### **2.6.2 Einsetzen mit Larvenextrakt**

Das Einsetzen der Milben wurde wie in Punkt 2.5 beschrieben durchgeführt. Mit der Beschränkung auf Zellen die bereits 24 h verdeckelt waren. Zusätzlich wurde entweder der Larvenextrakt oder die Lösungsmittelkontrolle in die Zelle eingebracht. Hierzu wurden vor dem Einsetzen der Milbe 2 µl Extrakt (entspricht 5 Leq) bzw. 2 µl Lösungsmittel in eine Injektionsspritze aufgezogen (Microliter Syringes, 10 µl, Hamilton) und auf die Larve aufgetragen. Um einer Repellentwirkung des Lösungsmittels vorzubeugen, wurde bis zu 2 min gewartet, bevor mit dem Einsetzen begonnen wurde. Die Spritze wurde vor jeder Verwendung mehrfach mit Pentan gespült.

Die Daten, die für die Auswertung aufgenommen wurden, entsprechen dem in Punkt 2.4 beschriebenen Schema. Die Kontrolle der Zellen erfolgte acht bis neun Tage nach der Präparation. Für die statistische Analyse wurden die Reproduktion mit ja (1) und die Nicht-Reproduktion mit nein (0) festgehalten.

## **2.7 Statistische Auswertung**

Die statistische Auswertung erfolgte mit WinSTAT (R. Fitch Software, Bad Krotzingen) und Microsoft® Excel 2007. Einzelne Analysen wurden zudem mit SPSS Version 11.0 (SPSS GmbH Software, München) geprüft und bestätigt.

Zur Feststellung von Abweichungen innerhalb einer Gruppe sowie signifikanten Unterschieden zwischen den verschiedenen Linien wurden die Fertilitätsraten aus Punkt 2.4 einer univariaten Varianzanalyse (ANOVA) unterzogen. Da vom *F*-Test der Varianzanalyse nicht getestet wird, welche Gruppenmittelwerte sich voneinander unterscheiden, wurden zur Klärung nachfolgende Mittelwertvergleiche herangezogen. Es lagen ungleiche Stichprobengruppen vor, die Testmethode fiel daher auf die Bonferroni Korrektur ( $p = 0,05$ ), ein modifizierter LSD Test (WERNER, 2004). Um Gemeinsamkeiten festzustellen, wurden die ermittelten Werte im Einsetzversuch unter Punkt 2.5 einer Spearman Rangkorrelation unterzogen und die unabhängigen Verteilungen aus Punkt 2.6 wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test auf signifikante Unterschiede hin überprüft.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 *Varroa*-Reproduktion

Als Maß für die Fertilität der *Varroa*-Weibchen aus Drohnen- und Arbeiterinnenbrut wurde der prozentuale Anteil an nicht reproduzierenden Muttermilben in Brutzellen mit Einfachbefall angegeben. Bei Völkern mit geringem Milbenbefall wurden bis zu drei Kontrollen durchgeführt. Die Anzahl der Nachkommen wurde nur bei einfachbefallenen Brutzellen ausgewertet, bei denen die Puppe mindestens 18 Tage alt war (Stadium bb2). Es wurden unabhängig vom Entwicklungsstadium alle Milbennachkommen gezählt.

##### 3.1.1 Arbeiterinnenbrut

###### 3.1.1.1 Fertilität

Die wenigsten reproduzierenden Milben in Arbeiterinnenbrutzellen (Tab. 1) wurden mit einem Anteil von 77,5 % ( $\pm 12,9$ ) bei den Gotland F2 Hybriden gefunden. Gefolgt von den Völkern Carnica mit 82,2 % ( $\pm 1,9$ ), Mellifera mit 88,9 % ( $\pm 16,4$ ) und Go/P mit 89,4 % ( $\pm 9,4$ ). Den höchsten Anteil an fertilen Milbenweibchen hatten die Ligusticavölker mit 95,8 % ( $\pm 4,2$ ). Eine Varianzanalyse der Mittelwerte ergab keine signifikanten Unterschiede in der Fertilität zwischen den Rassen ( $p > 0,05$ , ANOVA).

**Tabelle 1:** Prozentualer Anteil an reproduzierenden Milben in Arbeiterinnenbrut (Einzelbefall) mit Gruppenmittelwerten, Standardabweichung und der Gesamtzahl an ausgewerteten Zellen (n). Die Gotland F<sub>2</sub> Völker zeigen den geringsten Anteil an fertilen Milben, es folgen die Rassen Carnica, Mellifera und die Gotland Parentalgeneration. Die Ligustica Völker haben den höchsten Anteil an fertilen *Varroa*-Milben. Es finden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Rassen.

Volk	Linie	Fertilität (%)	MW (%)	STABW (%)	Zellen gesamt (n)
250	Carnica	80,0			
291	Carnica	83,3	82,2	1,9	90
400	Carnica	83,3			
31	Mellifera	100,0			
30	Mellifera	69,9	88,9	16,4	91
281	Mellifera	96,7			
354	Ligustica	96,7			
20	Ligustica	96,7	95,8	4,2	120
325	Ligustica	90,0			
22	Ligustica	100,0			

Volk	Linie	Fertilität (%)	MW (%)	STABW (%)	Zellen gesamt (n)
1001	Go/P	76,5			
203	Go/P	96,2			
601	Go/P	83,4	89,4	9,4	175
901	Go/P	96,7			
206	Go/P	100,0			
702	Go/P	88,0			
127	Go/F2	90,0			
253	Go/F2	76,6	77,5	12,9	120
94	Go/F2	83,3			
130	Go/F2	59,9			

### 3.1.1.2 Fekundität

Die Nachkommen pro Milbenweibchen in Arbeiterinnenbrutzellen sind in Tab. 2 dargestellt. Die Bienen aus dem „Bond Projekt“ und die Rasse *A. m. ligustica* haben durchschnittlich die meisten Nachkommen, die F<sub>2</sub> Generation aus Gotland und die Carnica Völker haben die wenigsten. Es finden sich keine signifikanten Unterschiede in der Nachkommenzahl zwischen den verschiedenen Gruppen ( $p > 0,05$ , ANOVA).

**Tabelle 2:** Durchschnittliche Anzahl der Nachkommen von *Varroa*-Weibchen in einfachbefallenen Arbeiterinnenbrutzellen acht Tage nach Zellverdeckelung (bb2). Werte in jeder Zeile gefolgt von gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant (n.s.) voneinander. Die wenigsten Nachkommen pro Milbenweibchen haben die Carnica und die Go/F<sub>2</sub>, die meisten Nachkommen finden sich bei den Ligustica und Go/P Völkern.

#### Nachkommen Arbeiterinnenbrut

	MW ± STABW	
<b>Carnica</b>	3,3 ± 0,2 n=90	A
<b>Mellifera</b>	3,4 ± 0,1 n=91	A
<b>Ligustica</b>	4,1 ± 0,4 n=120	A
<b>Go/P</b>	4,1 ± 0,5 n=175	A
<b>Go/F2</b>	3,3 ± 0,8 n=120	A
<b>ANOVA</b>	n.s.	

### 3.1.2 Drohnenbrut

#### 3.1.2.1 Fertilität

Die wenigsten reproduzierenden Milben in Drohnenbrutzellen wurden mit einem Anteil von 78,7 % ( $\pm 8,1$ ) bei den Gotland F2 Hybriden gefunden. Gefolgt von den Carnica Völkern mit 79,3 % ( $\pm 22,8$ ). Den höchsten Anteil an fertilen Milbenweibchen hatten die Mellifera Völker mit 82,8 % ( $\pm 11,7$ ). Eine Varianzanalyse der Mittelwerte ergab keine signifikanten Unterschiede in der Fertilität zwischen den Rassen ( $p > 0,05$ , ANOVA).

**Tabelle 3:** Prozentualer Anteil an reproduzierenden Milben in Drohnenbrut (Einzelbefall) mit Gruppenmittelwerten, Standardabweichung und der Gesamtzahl an ausgewerteten Zellen (n). Die Gotland F<sub>2</sub> Völker zeigen den geringsten Anteil an fertilen Milben, es folgt die Linie Carnica. Die Mellifera Völker haben den höchsten Anteil an fertilen *Varroa*-Milben. Es finden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Rassen.

Volk	Linie	Fertilität (%)	MW (%)	STABW (%)	Zellen gesamt (n)
291	Carnica	88,0			
250	Carnica	96,4	79,3	22,8	68
400	Carnica	53,3			
1	Mellifera	86,7			
2	Mellifera	92,3			
4	Mellifera	91,7			
30	Mellifera	61,1	82,8	11,7	179
31	Mellifera	73,1			
290	Mellifera	90,9			
281	Mellifera	84,2			
22	Ligustica	75,0			
354	Ligustica	75,0	58,6*	18,9	51
101	Ligustica	41,7			
325	Ligustica	42,9			
359	Go/F2	69,2			
253	Go/F2	85,3			
130	Go/F2	88,2	78,7	8,1	141
141	Go/F2	72,5			
94	Go/F2	78,4			

\*) **Bemerkung:** Aufgrund des späten Einweisungszeitpunktes und des hohen Milbenbefalls der Drohnenbrut war es nicht möglich von den Völkern der Rasse *A. m. ligustica* eine ausreichende Anzahl an einfachbefallenen Brutzellen aufzunehmen. Pro *Ligustica*-Volk wurden durchschnittlich zwölf auswertbare Zellen gefunden.

### 3.1.2.2 Fekundität

Aufgrund einer bereits sehr hohen Befallsrate der Drohnenbrut in allen Völkern, war es nicht möglich das in Punkt 2.4 beschriebene Stadium bb2 (acht Tage nach Zellverdeckelung und später) für die Errechnung der Fekundität heranzuziehen. Um ausreichend einfachbefallene Zellen für die jeweiligen Gruppenmittelwerte zur Verfügung zu haben, wurde ab dem Stadium bw, also bereits vier bis fünf Tage nach Verdeckelung, gezählt. Dieser Umstand erklärt die vergleichsweise geringe Nachkommenzahl in der Drohnenbrut.

Die Nachkommen pro Milbenweibchen in Drohnenbrutzellen sind in Tab. 4 dargestellt. Die geringste Nachkommenzahl haben *A. m. mellifera* und die F<sub>2</sub> Generation aus Gotland, die meisten Nachkommen hat die Linie *A. m. carnica*. Es finden sich keine signifikanten Unterschiede in der Fekundität zwischen den verschiedenen Rassen ( $p > 0,05$ , ANOVA).

**Tabelle 4:** Durchschnittliche Anzahl der Nachkommen von *Varroa*-Weibchen in einfachbefallenen Drohnenbrutzellen vier bis fünf Tage nach Zellverdeckelung (bw). Werte in jeder Zeile gefolgt von gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant (n.s.) voneinander. Die wenigsten Nachkommen pro Milbenweibchen haben die Mellifera und die Go/F<sub>2</sub>, die meisten Nachkommen finden sich bei den Carnica Völkern.

**Nachkommen Drohnenbrut**

	MW ± STABW	
<b>Carnica</b>	2,7 ± 0,9 n=68	A
<b>Mellifera</b>	2,6 ± 0,8 n=179	A
<b>Ligustica</b>	2,2 ± 1,3* n=51	A
<b>Go/F2</b>	2,6 ± 0,5 n=141	A
<b>ANOVA</b>	n.s.	

\*) **Bemerkung:** Aufgrund des späten Einweiselungszeitpunktes und des hohen Milbenbefalls der Drohnenbrut war es nicht möglich von den Völkern der Rasse *A. m. ligustica* eine ausreichende Anzahl an einfachbefallenen Brutzellen aufzunehmen. Pro *Ligustica*-Volk wurden durchschnittlich zwölf auswertbare Zellen gefunden.

Um die Anzahl an Nachkommen bei Drohnen- und Arbeiterinnenbrut dennoch miteinander vergleichen zu können, wurden aus der Gotland F<sub>2</sub> Generation elf Brutzellen von Drohnen und 30 Brutzellen von Arbeiterinnen im selben Puppenstadium (bb2) ausgewertet. Bei den anderen Rassen war dies nicht möglich, da sich zu wenige Drohnenbrutzellen in diesem Stadium befunden haben.

Die Werte der durchschnittlichen Anzahl an Nachkommen in Tab. 5 zeigen auf der Seite der Drohnenbrut 1,3 Nachkommen mehr als in der Arbeiterinnenbrut. Dieser Unterschied ist hochsignifikant ( $p < 0,01$ , U-Test).

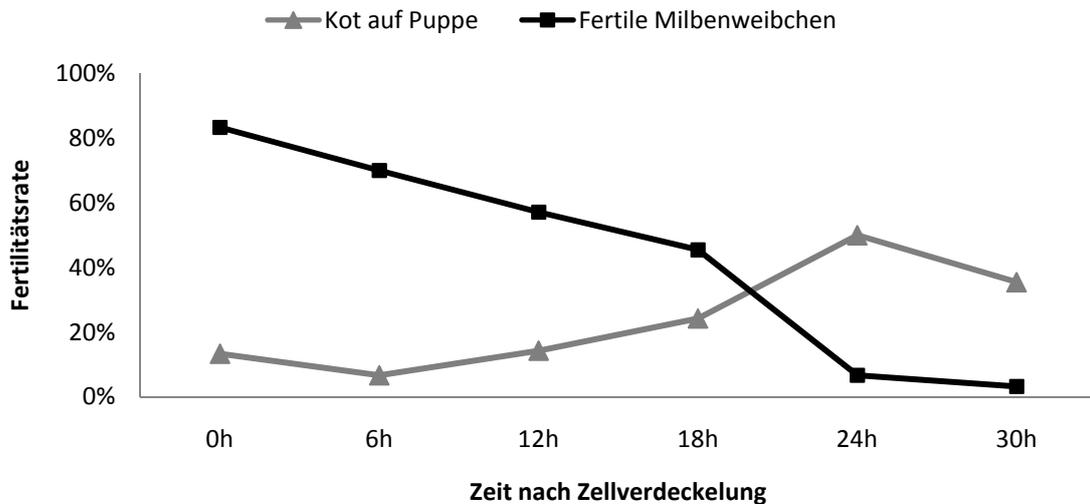
**Tabelle 5:** Vergleich der durchschnittlichen Anzahl der Nachkommen von *Varroa*-Weibchen in einfachbefallenen Drohnen- und Arbeiterinnenbrutzellen acht Tage nach Zellverdeckelung (bb2). In der Drohnenbrut sind ca. 1,3 Nachkommen pro Muttermilbe mehr zu finden als in Arbeiterinnenbrut.

<b>Geschlecht</b>	<b>Linie</b>	<b>Stadium</b>	<b>Zellen ges. (n)</b>	<b>Anzahl NK</b>	<b>Durchschnitt</b>
Drohnen	Go/F2	bb2	11	49	4,5
Arbeiterinnen	Go/F2	bb2	30	95	3,2

### 3.2 Aktivierung der *Varroa*-Reproduktion

Der Verlauf der Reproduktion ist in Abb. 12 zu sehen. Er zeigt, dass die Fertilität mit zunehmendem Abstand zum Verdeckelungszeitpunkt immer weiter abnimmt. Bei frisch verdeckelten Zellen (0 h) entsprechen die Werte für die Fertilität einem natürlichen Milbenbefall von ca. 85 % wie in Punkt 3.1.1 dargestellt. Bereits nach 24 h erliegt die Reproduktion fast vollständig und befindet sich nur noch bei ca. 7 %.

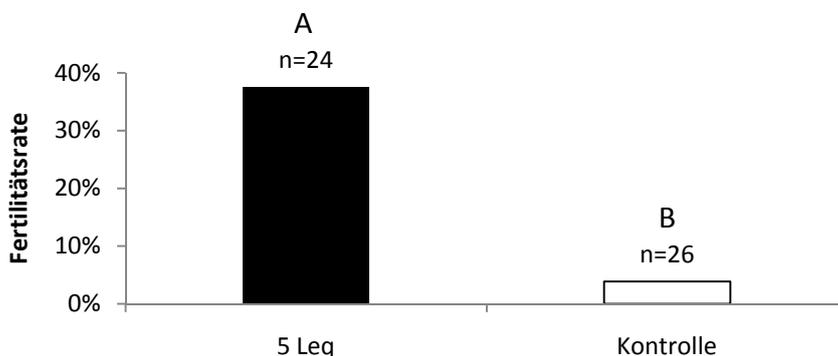
Je später das Milbenweibchen nach der Zellverdeckelung eingesetzt wurde, desto häufiger befand sich auch Kot auf der Puppe. Vergleicht man die zunehmende Infertilität der Milbenweibchen und die steigende Häufigkeit von Milbenkot auf der Puppe miteinander, ergeben sich ein positiver Korrelationskoeffizient von 0,88 und ein p-Wert von 0,0094. D.h. die beiden Parameter sind hochsignifikant miteinander korreliert ( $p < 0,01$ , SPEARMAN).



**Abbildung 12:** Die Fertilität (%) der *Varroa*-Weibchen nimmt mit zunehmendem Zeitintervall nach Zellverdeckung ab (0-30 h), parallel dazu findet man immer häufiger Kot auf der Puppe. Die Gesamtzahl der ausgewerteten Zellen beträgt n=182.

### 3.3 Einsetzversuch mit larvalen Duftstoffen

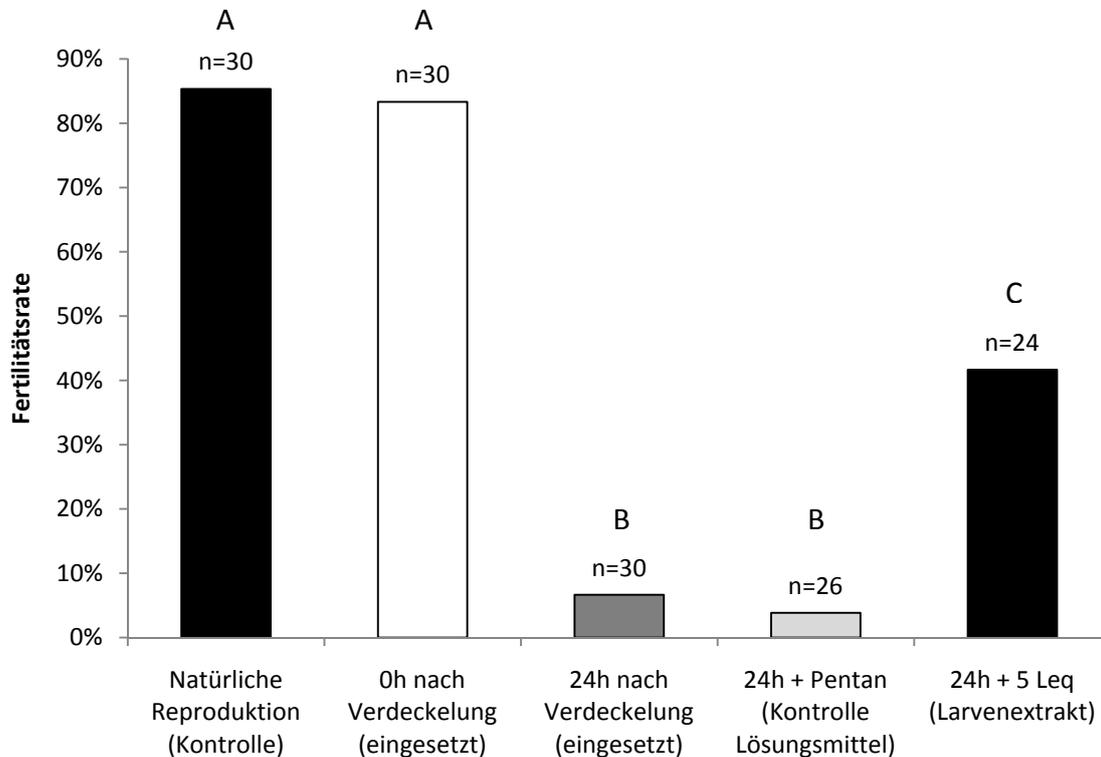
Die Fertilität der *Varroa*-Weibchen steigt bei der Behandlung mit dem Duftstoffextrakt (5 Leq) deutlich an, wie in Abb. 13 zu erkennen ist. Sie ist etwa zehnmal höher als bei der Behandlung mit reinem Lösungsmittel (Kontrolle) und liegt bei ca. 37 %. Die Kontrollgruppe hingegen bleibt auf dem Niveau nicht reproduzierender Milbenweibchen, ähnlich der Fertilitätsrate aus Punkt 3.2 die bei ca. 6 % liegt (24 h nach Verdeckung). Dieser Unterschied ist signifikant ( $p < 0,01$ , U-Test).



**Abbildung 13:** Vergleich Larvenextrakt und Kontrollgruppe mit der Gesamtzahl (n) an ausgewerteten Zellen u. Fertilitätsrate (%). Die Behandlung mit dem Duftstoff zeigt eine deutliche Zunahme der Reproduktion gegenüber der Kontrollgruppe. Säulen gefolgt von unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant voneinander ( $p < 0,01$ , U-Test).

### 3.4 Vergleichende Darstellung der Einsetzversuche

Um einen Überblick der verschiedenen Behandlungen und deren Einflüsse zu bekommen, werden in Abb. 14 Ergebnisse zu den Einsetzversuchen zusammenfassend und vergleichend dargestellt.



**Abbildung 14:** Vergleichende Darstellung aller Behandlungen mit der Gesamtzahl an ausgewerteten Zellen (n). Die Fertilitätsrate (%) beim Einsetzen unmittelbar nach der Verdeckelung (0h) entspricht der natürlichen Reproduktion. Nach 24h kommt diese beinahe zum Erliegen. Das Lösungsmittel Pentan hat beim Einsetzen nach 24h keinen Einfluss auf die Reproduktion. Wird allerdings der Larvenextrakt appliziert, nimmt die Reproduktion wieder deutlich zu. Säulen gefolgt von unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant voneinander ( $p < 0,01$ , U-Test).

Das Schaubild verdeutlicht, dass die Fertilitätsrate der Milbenweibchen beim Einsetzen direkt nach Zellverdeckelung (0 h) der natürlichen Reproduktion entspricht. Sie beträgt ca. 85 %. Bereits 24 h später ist der Anteil an fertilen Milben auf unter 10 % gesunken. Wird beim Einsetzen der Milben nach 24 h das Lösungsmittel Pentan als Kontrollsubstanz mit hinzugegeben, kann keine Änderung festgestellt werden. Appliziert man allerdings den Larvenextrakt in die Brutzelle, nimmt die Reproduktion von *V. destructor* signifikant zu.

## 4 Diskussion

### 4.1 Methodenkritik

#### 4.1.1 Probennahme

In der Drohnenbrut war bereits im Frühsommer ein massiver Milbenbefall zu verzeichnen. Erklärbar ist dieser Effekt durch die etwa acht Mal höhere Präferenz der Milbe für Drohnenzellen (FUCHS, 1990). Wie bereits beschrieben, ist auch die Zeit, in der die Zelle für die Milbe attraktiv ist um befallen zu werden etwa doppelt so lange wie für Arbeiterinnenbrutzellen (CALDERONE, et al., 2002). Diese Zusammenhänge machten es sehr schwierig, eine entsprechende Anzahl an einfachbefallenen Drohnenzellen auszuwerten. Bei der Rasse *A. m. ligustica* war der Befall so hoch, dass für die Drohnenbrut keine ausreichende Zahl an einfachbefallenen Zellen aufgenommen werden konnte.

Zusätzlich erschwerend wirkte der hohe Milbendruck von außen. Da die Völker meist zu größeren Gruppen an den jeweiligen Standorten sehr dicht beieinander aufgestellt waren, keine *Varroa*-Behandlung durchgeführt und auch keine Drohnenbrut ausgeschnitten wurde, begünstigte dies die Bedingungen für die Verschleppung von *V. destructor* in umliegende Völker.

#### 4.1.2 *Varroa*-Reproduktion

Für die Auswertung herangezogene Parameter zur Bestimmung der Reproduktion von *V. destructor* wird in vielen wissenschaftlichen Publikationen unterschiedlich dargestellt (CORRÊA-MARQUES, et al., 2003). Dies führt zu Ergebnissen, die möglicherweise nicht vergleichbar sind. Die Parameter in dieser Untersuchung waren eindeutig definiert und sind dadurch leicht zu reproduzieren. Für die Fertilitätsrate wurden nur Milben als infertil aufgenommen, die keine Eier legten. Dabei galten alle Weibchen als fertil, die mindestens ein Ei abgelegt hatten. Eine Einteilung darüber hinaus wäre mit einem weitaus größeren Zeitaufwand verbunden, der im Rahmen dieser Diplomarbeit nicht durchführbar gewesen wäre. Um z.B. die Reproduktionsraten bestimmen zu können, also die fertilen Nachkommen pro Muttermilbe, wäre eine kontinuierliche Aufnahme des Entwicklungsstadiums der Brutzellen erforderlich gewesen. Jedoch sind auch E.

FREY (persönl. Mitteilung, Jul. 2008) und I. FRIES (persönl Mitteilung, Aug. 2008) der Auffassung, dass die Definition für nicht reproduzierende Milbenweibchen weiter differenziert werden sollte. Bisher wird nur mit einem einfachen Ja/Nein Kriterium für fertil/infertil unterschieden. In eine weitere Differenzierung könnten Kriterien einfließen, wie z. B. die verspätete Eiablage oder das Fehlen von männlichen Nachkommen. Legt das Weibchen die Eier verspätet ab, reicht die Entwicklungszeit in der Zelle nicht mehr aus, dass die Tochtermilben ein adultes Stadium erreichen und befruchtet werden können. Ebenso verhält es sich wenn kein männliches Nachkommen in der Zelle auffindbar ist. Aus diesen Zellen gehen keine fertilen Tochtermilben hervor. Die Muttermilben wären also mit gänzlich infertilen Weibchen gleichzusetzen - werden aber in dieser Auswertung als fertil gewertet. Eine Erweiterung auf diese Kriterien könnte dazu beitragen, eine realistischere Fertilitätsrate widerzuspiegeln und zusätzliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Bienenherkünften zu erfassen. Zur Erfassung der Fekundität wurden nur Brutzellen mit 18 Tage alten Puppen und älter herangezogen. Nach dieser Zeit ist sichergestellt, dass die Muttermilbe die Eiablage beendet hat und alle möglichen Nachkommen aufgenommen werden können (GARRIDO, 2004).

#### **4.1.3 Einsetzversuch mit larvalen Duftstoffen**

Die Steuerung der Reproduktion durch larvale Duftstoffe im Bienenvolk erfolgt mittels Manipulation von Brutzellen. Künstlicher Milbenbefall durch Einsetzen von Milben in nicht befallene Arbeiterinnen- und Drohnenzellen stellt eine zuverlässige Methode dar, um die Milbenreproduktion *in vivo* zu untersuchen. In Verbindung mit den in dieser Arbeit verwendeten Lösungsmittel-Extrakten erkennen die Bienen unter Umständen die Fremdstoffe und fressen die „fremd riechenden“ Larven aus. Die Ausfressrate beläuft sich dabei im Mittel auf etwa 50 %.

Zur Vermeidung solcher Probleme wäre ein Absperrgitter oder Käfig auf der Brutwabe vorstellbar, welcher die Ammenbienen davon abhält die manipulierten Zellen auszufressen. Ein erster Prototyp kam auch in dieser Arbeit zum Einsatz, jedoch nur mit mäßigem Erfolg. Als weiteren Ansatz könnte man die manipulierten Waben erst einige Zeit im Brutschrank belassen, um sicher zu stellen, dass das Lösungsmittel verdunsten

kann. Für zukünftige Experimente sollten solche Verbesserungen der Extrakt Applikation zuvor geprüft werden.

## 4.2 *Varroa*-Fertilität im Vergleich

In der umfangreichen Untersuchung von Milben-Fertilität und -Fekundität der vier verschiedenen *A. mellifera* Herkünfte konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Der niedrigste Anteil an nicht reproduzierenden *Varroa*-Milben konnte in der Drohnen- und auch in der Arbeiterinnenbrut bei den F<sub>2</sub> Hybridvölkern nachgewiesen werden. Auch die Anzahl der Nachkommen war hier am geringsten. Die Parentalgeneration aus Gotland wies hingegen im Gruppenmittel eine höhere Milben-Fertilität in der Arbeiterinnenbrut auf. Auch die Nachkommenzahl war im Vergleich zur F<sub>2</sub> Generation höher.

Mit Werten zwischen knapp 80 bis 95 % bei Arbeiterinnenbrutzellen und 79 bis 83 % bei Drohnenbrutzellen decken sich die Ergebnisse mit den Literaturwerten. So fanden BOOT, et al. (1995), MARTIN, (1994), und MEDINA & MARTIN (1999) in ihren Untersuchungen eine einheitlich hohe Fertilität von über 80 %. Auch ältere Hohenheimer Daten bestätigen diese Werte (P. ROSENKRANZ, pers. Mitteilung, 2009) Jüngere Publikationen von AL-ATTAL (2006) und WELLER (2008) dokumentieren sogar Werte von über 90 % reproduzierender Milben. Auch bei den *Varroa*-toleranten afrikanisierten Honigbienen in Brasilien wird ein Anstieg der Milben-Fertilität verzeichnet (GARRIDO, 2004). Hierzulande erfolgte also in den letzten 20 Jahren keine Abnahme der Fertilität, selbst die Gotlandvölker aus über sechs Jahren natürlicher Selektion wiesen keine Verringerung auf. Es stellt sich also die Frage, warum es der Wirt nicht schafft sich entsprechend an die Milben anzupassen. Eine Erklärung könnte das Eingreifen der Imker wie z.B. durch das Verhindern des Schwärmens oder die Bekämpfung der *Varroose* sein. Den Bienen bleibt kaum eine Möglichkeit sich auf natürlichem Wege an die Milbe anzupassen und die Volksentwicklung wird dadurch wesentlich beeinflusst, da diese Maßnahmen den Selektionsdruck senken. Aber selbst die knapp siebenjährige natürliche Selektionsphase auf Gotland scheint für die Bienen nicht lange genug gewesen zu sein, um sich nachhaltig an die *Varroa*-Milbe anzupassen. Auch in Brasilien scheint der Selektionsdruck auf die Fertilität nicht hoch

genug zu sein, dafür spricht die dortige Zunahme an fertilen Milbenweibchen. Da die brasilianischen Völker jedoch nach wie vor nicht behandelt werden müssen, spielen möglicherweise andere Faktoren eine Rolle, die man bisher nicht näher betrachtet hat.

Im Hinblick auf die von WELLER (2008) gesammelten Daten konnte auch in dieser Untersuchung gezeigt werden, dass die *Varroa*-Milbe in Drohnenbrutzellen rund 1,3 Nachkommen mehr produziert als in Arbeiterinnenbrut. Das kann auf die höhere Attraktivität der Drohnenzellen zurückgeführt werden (CALDERONE, et al., 2002), sie bieten der Milbe eine etwa 2 bis 3 Tage längere Verdeckelungszeit und damit einen entscheidenden Entwicklungsvorteil. Da die Reproduktion unter hohem Zeitdruck abläuft, ist sie ein ausschlaggebender Faktor für den Vermehrungserfolg der Milbe.

WELLER (2008) fand in der Arbeiterinnenbrut eine signifikant geringere Anzahl an Nachkommen der Gotland F<sub>2</sub> Hybriden gegenüber der Kontrolle und den SMR Völkern. Ich habe dies nochmals überprüft. So hatte in meiner Untersuchung die Nachzucht aus Gotland sowohl in Drohnen- als auch in Arbeiterinnenbrut zwar die geringste Anzahl an Nachkommen, jedoch konnte ich keinen signifikanten Unterschied zu den anderen Gruppen bestätigen. Inwieweit die Fekundität als Toleranzfaktor eine Rolle spielt lässt sich nicht beurteilen. Es müsste durch künstliche Infektion von Brutzellen exakt festgehalten werden, wie hoch die Anzahl an Nachkommen der jeweiligen Linien zum selben Zeitpunkt ist.

Etwas unerwartet waren die Ergebnisse der Untersuchung an der ursprünglichen Population der Bienen aus dem „Bond Projekt“ auf Gotland. Diese zeigten im Vergleich mit den Völkern aus Deutschland weder einen Unterschied in der Fertilitätsrate noch in der Anzahl der Nachkommen. Die Fertilität war mit knapp 90 % des Gruppenmittels sogar sehr hoch. Der Anteil an nicht reproduzierenden Milben wird oft als wichtiger Faktor für die Toleranz gegenüber *V. destructor* betrachtet (ROSENKRANZ, 1999; HARBO & HARRIS, 2001; MEDINA, et al., 2002). Bei den Gotlandvölkern ist die *Varroa*-Fertilität wohl nicht der entscheidende Faktor dafür. Möglicherweise ist die Variabilität der Population größer als bei anderen Herkünften, zukünftige Untersuchungen sollten sich daher mehr auf Einzelvölker als auf die Gesamtpopulation

konzentrieren. Außerdem sollte die Bedeutung der Fekundität im Bezug auf *Varroa*-Toleranz näher betrachtet werden.

Vorstellbar wäre aber auch eine Anpassung von Parasit und Wirt an die isolierten Bedingungen der Insel. Da der Generationswechsel von *V. destructor* weitaus schneller erfolgt als bei *A. mellifera* ist dies in Betracht zu ziehen. Die Anpassung könnte vom Parasiten dahingehend erfolgt sein, dass sich der Reproduktionserfolg über die Jahre auf einem gleichbleibenden Niveau eingependelt hat. Der Wirt hingegen könnte sich so adaptiert haben, dass er mit einem relativ hohen Milbenbefall überleben kann. Wie von RENZ (2003) und SCHNELL (2007) bereits beobachtet wurde, führt die geringe Volksstärke der Gotlandvölker nach dem Auswintern schon im Vorfeld zu einem verringerten absoluten Milbenbefall.

#### **4.3 Aktivierung der *Varroa*-Reproduktion im Biotest**

In den Versuchen mit künstlich infizierten Brutzellen konnte gezeigt werden, dass die Anzahl an reproduzierenden Milben mit steigendem Zeitintervall nach Zellverdeckelung klar abnimmt. So entspricht die Fertilitätsrate der *Varroa*-Milben nach dem Einsetzen in eine frisch verdeckelte Brutzelle der eines natürlichen Befalls. Setzt man sie jedoch erst 24 h nach Verdeckelung in die Zelle, erliegt die Reproduktion fast vollständig.

GARRIDO (2004) hat bei Milbenweibchen, die 14 h nach Verdeckelung eingesetzt wurden, eine Fertilitätsrate von weniger als 50 % dokumentiert. Dieser Wert konnte auch in der vorliegenden Studie bestätigt werden. Das bedeutet, dass *V. destructor* nach dem Eindringen in eine bereits verdeckelte Brutzelle nur noch für einen relativ kurzen Zeitraum fähig ist, die Oogenese zu aktivieren und in die Phase der Eiablage zu gelangen. Nach 24 h haben sich die aktivierenden Signale so verändert, dass die Milbe nicht mehr reproduzieren kann.

Die Laborversuche von GARRIDO & ROSENKRANZ (2004) zur Aktivierung der Reproduktion bestätigten bereits, dass Duftstoffe der L5 Larvencuticula dabei eine entscheidende Rolle spielen. Mit der Erkenntnis, dass 24 h nach Verdeckelung eingesetzte Milbenweibchen nicht mehr in der Lage sind zu reproduzieren wurde im neuen Biotest der Duftstoffextrakt gezielt auf die offensichtlich nicht mehr aktivierende

Bienenlarve aufgebracht. Die Fertilität stieg nach der Behandlung wieder deutlich an und unterschied sich signifikant von der Lösungsmittelkontrolle. Damit konnte mit diesem neuen Ansatz erstmals bestätigt werden, dass larvale Duftstoffe auch *in situ* die *Varroa*-Reproduktion aktivieren.

Diese Ergebnisse aus dem Biotest bekräftigen die Hypothese, dass Wirtsfaktoren für die Steuerung der Oogenese bei *V. destructor* ausschlaggebend für den Reproduktionserfolg seien müssen. Hat die Milbe eine passende Brutzelle gefunden, wechselt sie von der Phoretischen- in die Reproduktionsphase. Dieser Moment stellt einen entscheidenden Schritt in der Reproduktionssteuerung dar. Als Trigger für Aktivierung des Brutzyklus sind larvale Duftstoffe verantwortlich (GARRIDO, 2004). Die Arbeiterinnenbrutzelle ist für die Milbe etwa 20 h vor der Zellverdeckelung attraktiv (CALDERONE, et al., 2002). In diesem Zeitraum werden gezielt nur die L5 Larven befallen, d.h. die *Varroa*-Weibchen müssen das geeignete Larvenstadium bei der Wirtsfindung erkennen können (IFANTIDIS & ROSENKRANZ, 1988). Die Milben nutzen somit das altersabhängige Duftstoffbouquet der Larve, da sie nur L5 Stadien befallen (AUMEIER, et al., 2002). Dadurch ist gewährleistet, dass die Oogenese schnellstmöglich aktiviert wird. GARRIDO (2004) vermutet hinter diesen Erkenntnissen eine Anpassung an die sehr kurze Zeitspanne, die *V. destructor* v.a. in der Arbeiterinnenbrut für die Reproduktion zur Verfügung steht.

Hinsichtlich dieser raschen Initiation der Oogenese nach dem Eindringen in die Brutzelle konnte ich zeigen, dass die Aktivierung vermutlich ausbleibt, sobald die restliche Reproduktionszeit nicht mehr ausreicht um adulte Nachkommen zu produzieren. Fertile Milbenweibchen beginnen offenbar gar nicht erst damit Eier zu legen, wenn keine ausreichende Verdeckelungszeit mehr gegeben ist. Dies würde zum Einen die Energiereserven der Milbe schonen, indem sie erst gar keine Eier legt bzw. bereits vorhandene Oozyten wieder einschmilzt (STEINER, et al., 1995). Zudem setzt sie ihre möglichen Nachkommen nicht dem Risiko aus, durch die zu kurze Entwicklungszeit nicht rechtzeitig geschlechtsreif und befruchtet zu werden. Dies hätte nach dem Schlüpfen der Biene den Tod aller Nachkommen zur Folge und zeigt in welchem hohem Maße sich die Milbe bereits an ihren Wirt angepasst hat.

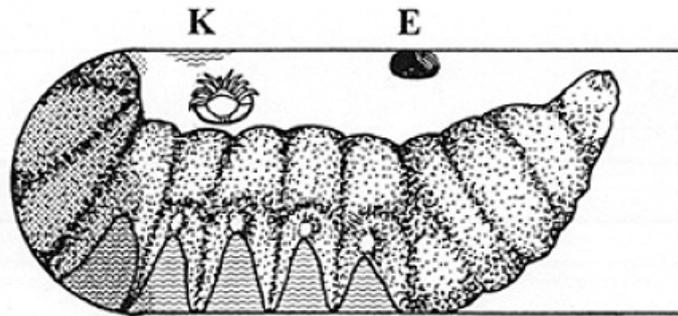
Die Regulationskaskade der Oogenese bei *V. destructor* beginnt nach dem Betreten der Brutzelle durch cuticuläre Substanzen der L5 Larve, die eine Aktivierung der sog. autosynthetischen Prozesse bewirken. Die Aufnahme von Hämolymphe leitet anschließend die Vitellogenese ein (STEINER, et al., 1995; GARRIDO, 2004). Eine mögliche hormonelle Regulation der Embryogenese ist jedoch noch ungeklärt. Vermutlich sind Qualität und Quantität der vorhandenen Hämolymphe ein wichtiges Signal zur weiteren Eireifung. Diese Faktoren werden von der Milbe nach dem ersten Anstechen der Larve registriert (GARRIDO, 2004). Denkbar wäre, dass diese „Qualitätskontrolle“ im Vorfeld eine weitere Maßnahme sein könnte, um den hohen Reproduktionserfolg aufrecht zu erhalten. Eine minderwertige oder unzureichende Nahrungsversorgung führt dann evtl. zum Abbruch der begonnenen Eireifung. An dieser Stelle sind jedoch weitere Untersuchungen nötig, die das Wechselspiel zwischen olfaktorischen und nutritiven Wirtsfaktoren näher betrachten.

Dass die Infertilität von *V. destructor* positiv mit dem Abkoten auf der Puppe korreliert ist, wurde von HÄNEL, et al. (1986) beschrieben. Auch in meiner Untersuchung konnte ich dies bestätigen. So wurde mit der Zunahme an nicht reproduzierenden Milben in den Brutzellen signifikant häufiger Milbenkot auf der Puppe gefunden.

Üblicherweise legen die Milbenweibchen einen Futterplatz am Zelldach nahe der analen Zone der Larve an (Abb. 15). Dieser dient als zentrale Sammelstelle und „Mating Point“ für die Milbennachkommen. Paarungen zwischen den *Varroa*-Männchen und den jungen Weibchen geschehen überwiegend hier. Dieses Gruppenverhalten dient im Wesentlichen dazu, einen hohen Begattungserfolg der jungen Weibchen zu gewährleisten (DONZÉ, et al., 1998).

Ist die Milbe jedoch infertil und hat keine Eier in der Brutzelle abgelegt, findet sich dieser Kotplatz vermehrt auf der Puppe selbst wieder bzw. die ganze Puppe ist voller weißer Kotpunkten. Diese Auffälligkeit steht möglicherweise mit der Störung der Oogenese durch die Abwesenheit optimaler Reproduktionsbedingungen in Zusammenhang. Normalerweise hält sich die Milbe während der Verpuppung auf der Larve auf (DONZÉ, et al., 1998). Sie vermeidet dadurch, dass sie zwischen Zellwand

und Kokon eingeschlossen wird. Sie saugt in dieser Phase vermehrt Hämolymphe von ihrem Wirt, damit die Oozyten ohne Verzug reifen können. Nach dem Spinnen des Kokons beginnt sie allmählich einen Futterplatz anzulegen (Abb. 15).



**Abbildung 15:** Schematische Seitenansicht der Raumaufteilung in einer Brutzelle im Stadium der Streckmade. K = Kot- bzw. Futterplatz, E = erstes Ei. Aus DONZÉ, et al., 1998.

Mit der Eiablage ändert sich dann auch das Verhalten der Milbe. Sie schränkt ihre Aktivität ein, verbleibt bis zu 90 % der Zeit am Futterplatz und steigt nur noch zum Fressen auf die Larve ab (DONZÉ, et al., 1998). Vermutlich spart sie dadurch Energie, die sie für die Eireifung benötigt. Die infertile Milbe jedoch scheint ihre Zeit nicht hauptsächlich am Zelldach zu verbringen, sondern sitzt bzw. wandert weiter auf der Larve umher evtl. weil noch nicht ausreichend Nahrung für die Reproduktion aufgenommen wurde. Die verteilten Kotpunkttchen auf der Oberfläche sprechen zumindest für diese Vermutung. In zukünftigen Untersuchungen sollte versucht werden, diese Stresssituation in einem kontrollierten Umfeld zu simulieren. Dadurch könnten möglicherweise wichtige Erkenntnisse über die Ursache für nicht reproduzierende Milben erlangt werden.

#### 4.4 Schlussfolgerung

Die unterschiedlichen Herkünfte der europäischen Honigbiene *A. mellifera* zeigten im Hinblick auf die Reproduktion von *V. destructor* keine Auffälligkeiten. Die Bienen aus Gotland, die aus einer über sechsjährigen natürlichen Selektion hervorgegangen sind und deren Nachzuchten in der zweiten Filialgeneration, wiesen gegenüber drei

kommerziell genutzten Bienenrassen keine Unterschiede auf. Weder die Anzahl an nicht reproduzierenden Milbenweibchen noch die Anzahl der Nachkommen unterschied sich in den Gruppen signifikant. Für die Praxis bedeutet das, dass eine Selektionszucht auf die untersuchten Kriterien nicht sinnvoll ist. Für eine Toleranzzucht kämen z.B. Kriterien in Frage, die eine ausreichende hohe Variation mit sich bringen würden. Dies ist hier nicht der Fall.

Der hohe Anteil an fertilen, also reproduzierenden Milben in allen untersuchten Völkern spricht für die große Anpassungsfähigkeit der *Varroa*-Milbe und gegen eine Adaptation seitens der europäischen Honigbiene. Solch eine Zunahme konnte auch von WELLER (2008) beobachtet werden. Dies legt den Schluss nahe, dass die *Varroa*-Fertilität wohl nicht als entscheidendes Toleranzmerkmal anzusehen ist. Möglicherweise spielen hier Faktoren eine Rolle, denen man noch keine oder eine zu geringe Beachtung geschenkt hat. Denkbar wäre es, die Fekundität in der Zukunft genauer zu untersuchen. Auch die Reproduktionsrate könnte sich durchaus zwischen den Rassen unterscheiden. Dieses Kriterium wurde aber in meiner Arbeit nicht untersucht und bietet Raum für zukünftige Forschung.

Die Applikation von larvalen Duftstoffen zeigte eine eindeutige Zunahme der Fertilität von *V. destructor* und unterstreicht damit die Wichtigkeit dieses Signals in der Steuerung der Oogenese. Um verstehen zu können wie die zeitliche und räumliche Abhängigkeit dieser Signale mit der Reproduktionssteuerung in Zusammenhang stehen, bedarf es weiterer intensiver Forschungsarbeit. Durch die genaue Identifizierung der aktivierenden Substanzen im Duftstoffextrakt könnte die Frage der „natürlichen“ Infertilität der *Varroa*-Milben beantwortet werden.

Mit dem neuen Biotest konnte ich zeigen, dass die *Varroa*-Reproduktion auch *in situ* durch Larvenduftstoffe spezifisch aktiviert wird. Die nutritive Versorgung des Milbenweibchens hingegen ist eher unspezifisch, da nach dem Einsetzen auch bei älteren Puppenstadien Nachkommen gefunden wurden. Unklar bleibt, ob die natürliche Infertilität durch eine ausbleibende Oogeneseaktivierung oder durch einen ausbleibenden Futterreiz ausgelöst wird. Möglicherweise spielen auch andere Faktoren

eine Rolle, die man bisher noch nicht in Betracht gezogen hat. Da der physiologische Hintergrund der Infertilität gerade im Wechselspiel zwischen olfaktorischen und nutritiven Wirtsfaktoren von *V. destructor* bislang ebenfalls ungeklärt ist, sollte im Hinblick auf das Verständnis der *Varroa*-Reproduktion in diesem Bereich weiter geforscht werden.

Für eine mögliche Anwendung zur *Varroa*-Bekämpfung in der Praxis könnte man diese Erkenntnisse nutzen und auf eine Störung des Signalweges nach dem Eindringen der Milbe in die Brutzelle hin arbeiten. Vorstellbar wäre z.B. eine Einbringung von reproduktionshemmenden Duftstoffen in Mittelwände. GARRIDO & ROSENKRANZ (2004) konnten z.B. durch Trennung der Larvenextrakte mittels Festphasenextraktion den Trigger für die Reproduktion eindeutig auf die polare Fraktion eingrenzen. Die Unterteilung dieser Fraktion in weitere „Unterfraktionen“ wäre zur genaueren Bestimmung der aktivierenden Substanzen sinnvoll. Ein Vergleich zwischen Extrakten von Larven aus Zellen mit fertilen und infertilen Milben könnte zudem zur Aufklärung der „natürlichen Infertilität“ beitragen. Die ausbleibende Aktivierung ist möglicherweise auf einen fehlenden oder unzureichenden Trigger zurückzuführen (GARRIDO, 2004). In folgenden Experimenten könnte z.B. durch mehrmalige Applikation des Duftstoffes probiert werden, die Fertilität verspätet eingesetzter Milbenweibchen auf ein natürliches Reproduktionsniveau weiter zu steigern. Eine Bekämpfung der *Varroose* auf diesem Wege ist derzeit noch nicht absehbar, jedoch ist die neue Methode weitaus weniger aufwändig als der alte Biotest (GARRIDO, 2004) und bietet damit neue Ansätze für zukünftige Forschungsarbeiten.

## 5 Zusammenfassung

Für das weitere Verständnis der *Varroa*-Reproduktion sollten in dieser Arbeit unterschiedliche *A. mellifera* Völker vergleichend betrachtet werden. Dazu wurden umfangreiche Reproduktionsdaten von *A. m. carnica* Kontrollvölkern aus der lokalen Hohenheimer Zuchtlinie, F<sub>2</sub> Hybridvölkern aus dem „Bond Projekt“, *A. m. mellifera* und *A. m. ligustica* Völkern aus Reinzuchten gesammelt. Die Gruppen wurden hinsichtlich Fertilität und Fekundität von *Varroa*-Weibchen untersucht und verglichen. Dazu wurde sowohl die Drohnenbrut als auch die Arbeiterinnenbrut eingehend betrachtet. Die Fertilitätsrate lag bei den Gruppenmittelwerten zwischen 80 und 100 %, die Fekundität lag zwischen drei und vier Nachkommen pro Milbenweibchen. Es zeigte sich, dass keine signifikanten Unterschiede dieser Parameter in den Gruppen bestanden. Zu verzeichnen war allerdings eine durchweg hohe Anzahl an fertilen, reproduzierenden Milben. Dies lässt den Schluss zu, dass seitens der Honigbienen keine Adaptation an die *Varroa*-Milbe stattgefunden hat. Für die imkerliche Praxis bedeutet das, dass eine Toleranzzucht auf das Merkmal *Varroa*-Fertilität nicht sinnvoll ist. Die tatsächliche Reproduktionsrate und auch die Fekundität der Milbenweibchen lassen jedoch Raum für zukünftige Untersuchungen.

In einem neuen Ansatz sollte zudem festgestellt werden, ob die Aktivierung der *Varroa*-Reproduktion *in situ* bestätigt werden kann. Zuvor geschah dies nur im Laborversuch mit einem sehr aufwendigen Biotest (GARRIDO, 2004). Um festzustellen in welchem Zeitraum die *Varroa*-Reproduktion nach der Zellverdeckelung noch durch Wirtssignale aktiviert werden kann, wurden Arbeiterinnenbrutzellen in verschiedenen Zeitintervallen künstlich mit *Varroa*-Milben infiziert. Die Fertilität entsprach bei frisch verdeckelten Zellen (0 h nach Verdeckelung) der einer natürlichen Reproduktion. Bereits nach 24 h reproduzierte nur noch ein Bruchteil der eingesetzten Milben. Mit Duftstoffextrakten der L5 Larve konnten die nach 24 h eingesetzten nicht reproduzierenden Milben dahingehend beeinflusst werden, dass sie wieder begannen Eier zu legen. D.h. die Reproduktion konnte durch larvale Duftstoffe aktiviert werden. Dies konnte in meiner Arbeit zum ersten Mal im Bienenvolk selbst bestätigt werden. Diese Erkenntnis verdeutlicht, dass die Aktivierung spezifisch geschieht und unterstreicht nochmals die

Wichtigkeit von Duftstoffen in der Regulation der *Varroa*-Reproduktion. Zudem ist diese Methode weitaus weniger aufwändig als der alte Biotest und bietet damit neue Ansätze für zukünftige Forschungsarbeiten.

## 6 Literaturverzeichnis

Al-Attal, Y. (2006). The host parasite relation of the parasitic mite *Varroa destructor* (Anderson and Trueman) and the honey bee races *A. m. syriaca* (Skorikov) and *A. m. carnica* (Pollmann) in Jordan. *Dissertation* .

Anderson, D. (1994). Non-reproduction of *Varroa jacobsoni* in *Apis mellifera* colonies in Papua New Guinea and Indonesia. *Apidologie* (25), S. 412-421.

Anderson, D., & Trueman, J. (2000). *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental and Applied Acarology* (24), S. 165–189.

Aumeier, P., Rosenkranz, P., & Francke, W. (2002). Cuticular volatiles, attractivity of worker larvae and invasion of brood cells by *Varroa* mites. A comparison of Africanized and European honey bees. *Chemoecology* (12), S. 65–75 .

Boot, W., Calis, J., & Beetsma, J. (1995). Does time spent on adult bees affect reproductive success of *Varroa* mite? *Entomologia Experimentalis et Applicata* (75), S. 1-7.

Büchler, R., & Hofmann, S. (1991). *Varroa*-Transfer zwischen Völkern. *Deutsches Imker Journal* , S. 376-381.

Calderone, N., Lin, S., & Kuenen, L. (2002). Differential infestation of honey bee, *Apis mellifera*, worker and queen brood by the parasitic mite *Varroa destructor*. *Apidologie* (33), S. 389–398.

Calis, J., Fries, I., & Ryrie, S. (1999). Population modelling of *Varroa jacobsoni* Oudemans. *Apidologie* (30), S. 111-124.

Corrêa-Marques, M., Medina, L. M., Martin, S., & De Jong, D. (2003). Comparing data on the reproduction of *Varroa destructor*. *Genetics and molecular research* (1), S. 1-6.

Czoppelt, C., & Rembold, H. (1970). Vergleichende Analyse des Kohlenhydratstoffwechsels bei den kasten der Honigbiene *Apis mellifera*. *Journal of Insect Physiology* (16), S. 1249-1264.

- de Guzman, L., Rinderer, T. E., & Frake, A. M. (2008). Comparative reproduction of *Varroa destructor* in different types of Russian and Italian honey bee combs. *Experimental and Applied Acarology* (44), S. 227–238.
- de Jong, D. (1988). *Varroa jacobsoni* does reproduce in worker cells of *Apis cerana* in South Korea. *Apidologie* (19), S. 241-244.
- de Jong, D., Morse, R., & Eickwort, G. (1982). Mite pests of honey bees. *Annual Review of Entomology* (27), S. 229-252.
- de Ruijter, A. (1987). Reproduction of *Varroa jacobsoni* during successive brood cycles of the honeybee. *Apidologie* (18), S. 321-326.
- Donzé, G., Fluri, P., & Imdorf, A. (1998). Hochorganisierte Leben auf kleinem Raum: Die Fortpflanzung der *Varroa*-Milben in den verdeckelten Brutzellen der Bienenvölker. *Schweizerische Bienen-Zeitung* (121), S. 26-33.
- Fries, I., & Bommarco, R. (2007). Possible host-parasite adaptations in honey bees infested by *Varroa destructor* mites. *Apidologie* (38), S. 525-533.
- Fries, I., & Rosenkranz, P. (1996). Number of reproductive cycles of *Varroa jacobsoni* in honey-bee (*Apis mellifera*) colonies. *Experimental and Applied Acarology* (20), S. 103-112.
- Fries, I., Hansen, H., Imdorf, A., & Rosenkranz, P. (2003). Swarming in honey bees (*Apis mellifera*) and *Varroa destructor* population development in Sweden. *Apidologie* (34), S. 389–397.
- Fries, I., Imdorf, A., & Rosenkranz, P. (2006). Survival of mite infested (*Varroa destructor*) honey bee (*Apis mellifera*) colonies in a Nordic climate. *Apidologie* (37), S. 564–570.
- Fuchs, S. (1990). Preference for drone brood cells by *Varroa jacobsoni* Oud in colonies of *Apis mellifera carnica*. *Apidologie* (21), S. 193-199.

Fuchs, S., & Langenbach, K. (1989). Multiple infestation of *Apis mellifera* L. brood cells and reproduction in *Varroa jacobsoni* Oudemans. *Apidologie* (20), S. 257-266.

Fujiyuki, T. (2004). Novel Insect Picorna-Like Virus Identified in the Brains of Aggressive Worker Honeybees. *Journal of Virology* (78).

Garrido, C. (2004). Reproduktionssteuerung bei der parasitischen Bienenmilbe *Varroa destructor* Anderson & Trueman 2000 (ehemals *Varroa jacobsoni* Oudemans). *Dissertation* .

Garrido, C., & Rosenkranz, P. (2003). The reproductive program of female *Varroa destructor* mites is triggered by its host, *Apis mellifera*. *Experimental and Applied Acarology* (31), S. 269–273.

Garrido, C., & Rosenkranz, P. (2004). Volatiles of the honey bee larva initiate oogenesis in the parasitic mite *Varroa destructor*. *Chemoecology* (14), S. 193–197.

Hänel, H., & Koeninger, N. (1986). Possible regulation of the reproduction of the honey bee mite *Varroa jacobsoni* by a host's hormone: Juvenile hormone III. *Journal of Insect Pathology* (32), S. 791-798.

Harbo, J., & Harris, J. (2001). SMRD Honey Bees. *Bee Culture* (129, No. 5), S. 34–39.

Harbo, J., & Harris, J. (2005). Suppressed mite reproduction explained by the behaviour of adult bees. *Journal of Apicultural Research* , 44 (1), S. 21-23.

Harris, J., & Harbo, J. (2000). Changes in reproduction of *Varroa destructor* after honey bee queens were exchanged between resistant and susceptible colonies. *Apidologie* (31), S. 689-699.

Ifantidis, M. (1988). Some aspects of the process of *Varroa jacobsoni* mite entrance into honey bee (*Apis mellifera*) brood cells. *Apidologie* (19), S. 387-396.

Ifantidis, M., & Rosenkranz, P. (1988). Reproduktion der Bienenmilbe *Varroa jacobsoni* (Acarina: Varroidae). *Entomologia Generalis* (14), S. 111-122.

Koeninger, N., Koeninger, G., & Wijayagunasekara, N. (1981). Beobachtungen über die Anpassungen von *Varroa jacobsoni* an ihren natürlichen Wirt *Apis cerana* in Sri Lanka. *Apidologie* (12), S. 37-40.

Kovac, H., & Crailsheim, K. (2006). Lifespan of *Apis mellifera carnica* Pollm. infested by *Varroa jacobsoni* Oud. in relation to season end extent of infestation. *Journal of Apicultural Research* (7), S. 230-238.

Le Conte, Y., Arnold, G., Trouiller, J., & Masso, C. (1990). Identification of a Brood Pheromone in Honeybees. *Naturwissenschaften* (77), S. 334-336.

Le Conte, Y., de Vaublanc, G., Crauser, D., Jeanne, F., Rousselle, J.-C., & Bécard, J.-M. (2007). Honey bee colonies that have survived *Varroa destructor*. *Apidologie* (38), S. 566-572.

Martin, S. (1994). Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in worker brood of the honeybee *Apis mellifera* L. under natural conditions. *Experimental and Applied Acarology* (19), S. 199-210.

Martin, S., Holland, K., & Murray, M. (1997). Non-reproduction in the honeybee mite *Varroa jacobsoni*. *Experimental and Applied Acarology* (21), S. 539-549.

Medina, L. M., & Martin, S. J. (1999). A comparative study of *Varroa jacobsoni* reproduction in worker cells of honeybees (*Apis mellifera*) in England and Africanized bees in Yucatan, Mexico. *Experimental and Applied Acarology* (23), S. 659-667.

Medina, L. M., Martin, S. J., Espinosa-Montano, L., & Ratnieks, F. L. (2002). Reproduction of *Varroa destructor* in worker brood of africanized honey bees (*Apis mellifera*). *Experimental and Applied Acarology* (54), S. 1-10.

Milani, N., Della Vedova, G., & Nazzi, F. (2004). (Z)-8-Heptadecene reduces the reproduction of *Varroa destructor* in brood cells. *Apidologie* (35), S. 265-273.

Neumann, K., & Schwenkel, J. (2007). *Varroa unter Kontrolle*. (A. d. e.V., Hrsg.)

- Peng, Y., Fang, Y., Xu, S., & Ge, L. (1987). The resistance mechanisms of the Asian honey bee *Apis cerana* to an ectoparasitic mite, *Varroa jacobsoni*. *Journal of Invertebrate Pathology* (49), S. 54-60.
- Rath, W. (1999). Co-adaptation of *Apis cerana* Fabr. and *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie* (30), S. 97-110.
- Rehm, S., & Ritter, W. (1989). Sequence of the sexes in the offspring of *Varroa jacobsoni* and the resulting consequences for the calculation of the development period. *Apidologie* (20), S. 339-343.
- Renz, M. (2003). Die Populationsdynamik der Bienenmilbe *Varroa destructor*(Anderson) bei Völkern von *Apis mellifera* unter besonderer Berücksichtigung der Reinvasion. *Dissertation* .
- Rosenkranz, P. (1999). Honey Bee (*Apis mellifera* L.) tolerance to *Varroa jacobsoni* Oud. in South America. *Apidologie* (30), S. 159-172.
- Rosenkranz, P., & Engels, W. (1994). Infertility of *Varroa jacobsoni* females after invasion into *Apis mellifera* worker brood as a tolerance factor against varroaosis. *Apidologie* (25), S. 402-411.
- Rosenkranz, P., Tewarson, N., Rachinsky, A., Strambi, A., Strambi, C., & Engels, W. (1993). Juvenile hormone titer and reproduction of *Varroa jacobsoni* in capped brood stages of *Apis cerana indica* in comparison to *Apis mellifera ligustica*. *Apidologie* (24), S. 375-382.
- Schnell, H. (2007). Die Populationsdynamik der Varroa-Milbe (*Varroa destructor*) bei Völkern der Europäischen Honigbiene (*Apis mellifera*). *Diplomarbeit* .
- Seeley, T. (2007). Honey bees of the Arnot Forest a population of feral colonies persisting with *Varroa destructor* in the northeastern United States. *Apidologie* (38), S. 19–29.
- Solignac, M., Cornuet, J.-M., Vautrin, D., Le Conte, Y., Anderson, D., Evans, J., et al. (2005). The invasive Korea and Japan types of *Varroa destructor*, ectoparasitic mites of

the Western honeybee (*Apis mellifera*), are two partly isolated clones. *Proceedings of the Royal Society* (272), S. 411–419.

Steiner, J., Diehl, P., & Vlimant, M. (1995). Vitellogenesis in *Varroa jacobsoni*, a parasite of honey bees. *Experimental and Applied Acarology* (19), S. 411-422.

Stürmer, M., & Rosenkranz, P. (1994). Die Bedeutung der phoretischen Phase für die Oogenese von *Varroa jacobsoni*. *Apidologie* (25), S. 453-455.

Toullier, J., & Milani, N. (1999). Stimulation of *Varroa jacobsoni* Oud. oviposition with semiochemicals from honeybee brood. *Apidologie* (30), S. 3-12.

Weller, S. (2008). Populationsdynamik der parasitischen Bienenmilbe *Varroa destructor* in vorselektierten Bienenvölkern (*A. mellifera* L.) unter besonderer Berücksichtigung der Reproduktion. *Diplomarbeit* .

Werner, P. D. (2004). Versuchsplanung und Statistik. *Vorlesungsskript* (WS 2004/2005), S. 12.

Yang, X., & Cox-Foster, D. (2005). Impact of an ectoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: evidence for host immunosuppression and viral amplification. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* (102).

Yue, C., & Genersch, E. (2005). RT-PCR analysis of deformed wing virus in honeybees (*Apis mellifera*) and mites (*Varroa destructor*). *The Journal of general virology* (86), S. 3419–24.

## 7 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: <i>V. destructor</i> auf Drohnenpuppe .....	2
Abbildung 2: Phoretische <i>V. destructor</i> auf adulter Arbeiterbiene .....	2
Abbildung 3: Missbildungen an Flügel und Extremitäten .....	3
Abbildung 4: Deformiertes Abdomen und missgebildete Flügel einer Arbeiterin .....	3
Abbildung 5: Geografische Lage der Versuchsvölker .....	10
Abbildung 6: Unterschiedliche Arbeiterinnenpuppen ( <i>A. m. ligustica</i> ) nach dem Stadium der Entwicklung (Post-Verdeckelung) sortiert. a. Tag 3 (ww), b. Tag 4 (ww-bw), c. Tag 5 (bw), d. Tag 6 (bb1), e. Tag 8 (bb2), f. Tag 10 (bb3), g. Tag 12 (PA) Klassifizierung nach CZOPPELT & REMBOLD, 1970.....	12
Abbildung 7: Protokoll zur Aufnahme von Reproduktionsdaten.....	14
Abbildung 8: Zelldeckel wird vorsichtig geöffnet .....	15
Abbildung 9: Einsetzen der Milbe (roter Pfeil).....	15
Abbildung 10: Geöffneter Zelldeckel mit L5 Larve.....	16
Abbildung 11: Die Larve wird vorsichtig herausgezogen.....	16
Abbildung 12: Die Fertilität (%) der <i>Varroa</i> -Weibchen nimmt mit zunehmendem Zeitintervall nach Zellverdeckelung ab (0-30 h), parallel dazu findet man immer häufiger Kot auf der Puppe. Die Gesamtzahl der ausgewerteten Zellen beträgt n=182.	23
Abbildung 13: Vergleich Larvenextrakt und Kontrollgruppe mit der Gesamtzahl (n) an ausgewerteten Zellen u. Fertilitätsrate (%). Die Behandlung mit dem Duftstoff zeigt eine deutliche Zunahme der Reproduktion gegenüber der Kontrollgruppe. Säulen gefolgt von unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant voneinander ( $p < 0,01$ , U-Test). .....	23
Abbildung 14: Vergleichende Darstellung aller Behandlungen mit der Gesamtzahl an ausgewerteten Zellen (n). Die Fertilitätsrate (%) beim Einsetzen unmittelbar nach der Verdeckelung (0h) entspricht der natürlichen Reproduktion. Nach 24h kommt diese beinahe zum Erliegen. Das Lösungsmittel Pentan hat beim Einsetzen nach 24h keinen Einfluss auf die Reproduktion. Wird allerdings der Larvenextrakt appliziert, nimmt die Reproduktion wieder deutlich zu. Säulen gefolgt von unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant voneinander ( $p < 0,01$ , U-Test).....	24

Abbildung 15: Schematische Seitenansicht der Raumaufteilung in einer Brutzelle im Stadium der Streckmade. K = Kot- bzw. Futterplatz, E = erstes Ei. Aus DONZÉ, et al., 1998. ....	32
Abbildung 16: Fertilität Drohnen Einfachbefall.....	48
Abbildung 17: Anzahl der Nachkommen Drohnen Einzelbefall (Stadium bw).....	51
Abbildung 18: Fertilität Arbeiterinnen Einfachbefall .....	53
Abbildung 19: Anzahl der Nachkommen Arbeiterinnen (Stadium bb2).....	56
Abbildung 20: Einsetzvergleich Duftstoff u. Kontrolle .....	61

## 8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Prozentualer Anteil an reproduzierenden Milben in Arbeiterinnenbrut (Einzelbefall) mit Gruppenmittelwerten, Standardabweichung und der Gesamtzahl an ausgewerteten Zellen (n). Die Gotland F <sub>2</sub> Völker zeigen den geringsten Anteil an fertilen Milben, es folgen die Rassen Carnica, Mellifera und die Gotland Parentalgeneration. Die Ligustica Völker haben den höchsten Anteil an fertilen <i>Varroa</i> -Milben. Es finden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Rassen. ....	18
Tabelle 2: Durchschnittliche Anzahl der Nachkommen von <i>Varroa</i> -Weibchen in einfachbefallenen Arbeiterinnenbrutzellen acht Tage nach Zellverdeckelung (bb2). Werte in jeder Zeile gefolgt von gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant (n.s.) voneinander. Die wenigsten Nachkommen pro Milbenweibchen haben die Carnica und die Go/F <sub>2</sub> , die meisten Nachkommen finden sich bei den Ligustica und Go/P Völkern.....	19
Tabelle 3: Prozentualer Anteil an reproduzierenden Milben in Drohnenbrut (Einzelbefall) mit Gruppenmittelwerten, Standardabweichung und der Gesamtzahl an ausgewerteten Zellen (n). Die Gotland F <sub>2</sub> Völker zeigen den geringsten Anteil an fertilen Milben, es folgt die Linie Carnica. Die Mellifera Völker haben den höchsten Anteil an fertilen <i>Varroa</i> -Milben. Es finden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Rassen. ....	20
Tabelle 4: Durchschnittliche Anzahl der Nachkommen von <i>Varroa</i> -Weibchen in einfachbefallenen Drohnenbrutzellen vier bis fünf Tage nach Zellverdeckelung (bw). Werte in jeder Zeile gefolgt von gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant (n.s.) voneinander. Die wenigsten Nachkommen pro Milbenweibchen haben die Mellifera und die Go/F <sub>2</sub> , die meisten Nachkommen finden sich bei den Carnica Völkern. ....	21
Tabelle 5: Vergleich der durchschnittlichen Anzahl der Nachkommen von <i>Varroa</i> -Weibchen in einfachbefallenen Drohnen- und Arbeiterinnenbrutzellen acht Tage nach Zellverdeckelung (bb2). In der Drohnenbrut sind ca. 1,3 Nachkommen pro Muttermilbe mehr zu finden als in Arbeiterinnenbrut.....	22
Tabelle 6: Fertilität Drohnen Einfachbefall.....	47
Tabelle 7: Mittelwerte Fertilität Drohnen Einfachbefall.....	48

Tabelle 8: Varianzanalyse Fertilität Drohnen Einfachbefall .....	49
Tabelle 9: Anzahl der Nachkommen Drohnen Einfachbefall (Stadium bw) .....	50
Tabelle 10: Mittelwerte Anzahl der Nachkommen Drohnen (Stadium bw) .....	51
Tabelle 11: Varianzanalyse Anzahl der Nachkommen Drohnen (Stadium bw) .....	52
Tabelle 12: Fertilität Arbeiterinnen Einzelbefall.....	53
Tabelle 13: Mittelwerte Fertilität Arbeiterinnen Einzelbefall .....	54
Tabelle 14: Varianzanalyse Fertilität Arbeiterinnen Einfachbefall.....	55
Tabelle 15: Anzahl der Nachkommen Arbeiterinnen (Stadium bb2).....	56
Tabelle 16: Mittelwerte Anzahl der Nachkommen Arbeiterinnen (Stadium bb2) .....	57
Tabelle 17: Varianzanalyse Anzahl der Nachkommen Arbeiterinnen (Stadium bb2) ...	58
Tabelle 18: Nachkommenvergleich Arbeiterinnen u. Drohnen Go/F2 (U-Test).....	59
Tabelle 19: Aktivierung der Reproduktion.....	60
Tabelle 20: Spearman Rangkorrelation Reproduktion Kot a. P. ....	60
Tabelle 21: Mittelwerte Einsetzen mit larvalen Duftstoffen .....	61
Tabelle 22: Mann-Whitney-U-Test Einsetzversuch Duftstoff .....	62

## 9 Anhang

### 9.1 Rohdaten *Varroa*-Reproduktion

#### 9.1.1 Fertilität Drohnen Einfachbefall

Tabelle 6: Fertilität Drohnen Einfachbefall

Volk	Rasse	Repro. (+)	Kot a. P.	Zellen	Zellen (+)	Absolut (+)
359	Go/F2	69,2	23,1	13	9	0,69
253	Go/F2	85,3	14,7	34	29	0,85
130	Go/F2	88,2	5,9	17	15	0,88
141	Go/F2	72,5	12,5	40	29	0,73
94	Go/F2	78,4	21,6	37	29	0,78
1	Mellifera	86,7	26,7	15	13	0,87
2	Mellifera	92,3	7,7	13	12	0,92
4	Mellifera	91,7	18,8	48	44	0,92
30	Mellifera	61,1	36,1	36	22	0,61
31	Mellifera	73,1	15,4	26	19	0,73
290	Mellifera	90,9	9,1	22	20	0,91
291	Mellifera	84,2	15,8	19	16	0,84
291	Carnica	88,0	32,0	25	22	0,88
250	Carnica	96,4	21,4	28	27	0,96
400	Carnica	53,3	40,0	15	8	0,53
22	Ligustica	75,0	12,5	8	6	0,75
354	Ligustica	75,0	16,7	24	18	0,75
101	Ligustica	41,7	16,7	12	5	0,42
325	Ligustica	42,9	28,6	7	3	0,43

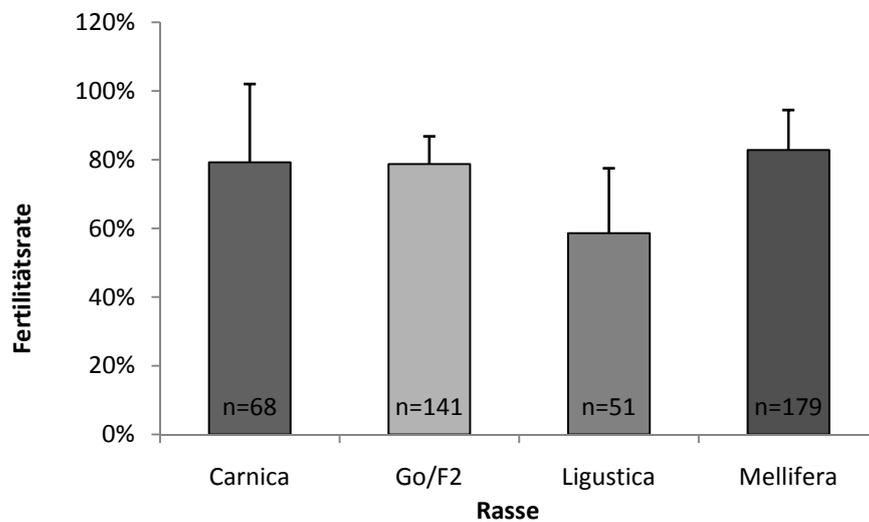


Abbildung 16: Fertilität Drohnen Einfachbefall

Tabelle 7: Mittelwerte Fertilität Drohnen Einfachbefall

Mittelwerte					
Messvariable: Absolut (+)					
gruppiert nach: Rasse					
und nach: ----					
	N	Mittelwert	95% Vertrauen (±)	Std.Fehler	Std.Abw.
Carnica	3	0,793	0,567	0,132	0,228
Go/F2	5	0,787	0,101	0,036	0,081
Ligustica	4	0,586	0,301	0,095	0,189
Mellifera	7	0,828	0,108	0,044	0,117
gesamte Stichprobe	19	0,761	0,079	0,037	0,163

**Tabelle 8:** Varianzanalyse Fertilität Drogen Einfachbefall

<b>Varianzanalyse</b>					
<b>Messvariable:</b> Absolut (+)					
<b>gruppiert nach:</b> Rasse					
	<b>Quadrat- summe</b>	<b>Freiheits- grade</b>	<b>mittlere QS</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>Zwischen</b>	0,160	3	0,053	2,510	0,098
<b>Innerhalb</b>	0,320	15	0,021		
<b>Gesamt</b>	0,480	18	0,027		
Bartlett-Test zur Varianzgleichheit					
	<b>Chi- Quadrat</b>	<b>Freiheits- grade</b>	<b>P</b>		
	3,580	3	0,311		
Multiple Vergleiche					
<b>Methode:</b> Bonferroni			<b>Signifikanz (p):</b> 0,05		
Kritische Mittelwert-Differenzen zwischen Gruppenpaaren (rechts oben) und Signifikanzwertung (links unten):					
	<b>(Mittelwert)</b>	<b>Ligustica</b>	<b>Go/F2</b>	<b>Carnica</b>	<b>Mellifera</b>
<b>Ligustica</b>	0,586	----	0,297	0,338	0,278
<b>Go/F2</b>	0,787	nein	----	0,324	0,259
<b>Carnica</b>	0,793	nein	nein	----	0,306
<b>Mellifera</b>	0,828	nein	nein	nein	----

### 9.1.2 Anzahl der Nachkommen Dronen

**Tabelle 9:** Anzahl der Nachkommen Dronen Einfachbefall (Stadium bw)

<b>Volk</b>	<b>Rasse</b>	<b>Muttermilben</b>	<b>NK</b>	<b>Durchschnitt</b>
359	Go/F2	13	34	2,6
253	Go/F2	34	99	2,9
130	Go/F2	17	43	2,5
141	Go/F2	40	71	1,8
94	Go/F2	37	119	3,2
1	Mellifera	15	52	3,5
2	Mellifera	13	37	2,8
4	Mellifera	48	186	3,9
30	Mellifera	36	71	2,0
31	Mellifera	26	51	2,0
290	Mellifera	22	62	2,8
291	Mellifera	19	30	1,6
291	Carnica	25	81	3,2
250	Carnica	28	89	3,2
400	Carnica	15	26	1,7
22	Ligustica	8	31	3,9
354	Ligustica	21	53	2,5
101	Ligustica	5	5	1,0
325	Ligustica	7	11	1,6

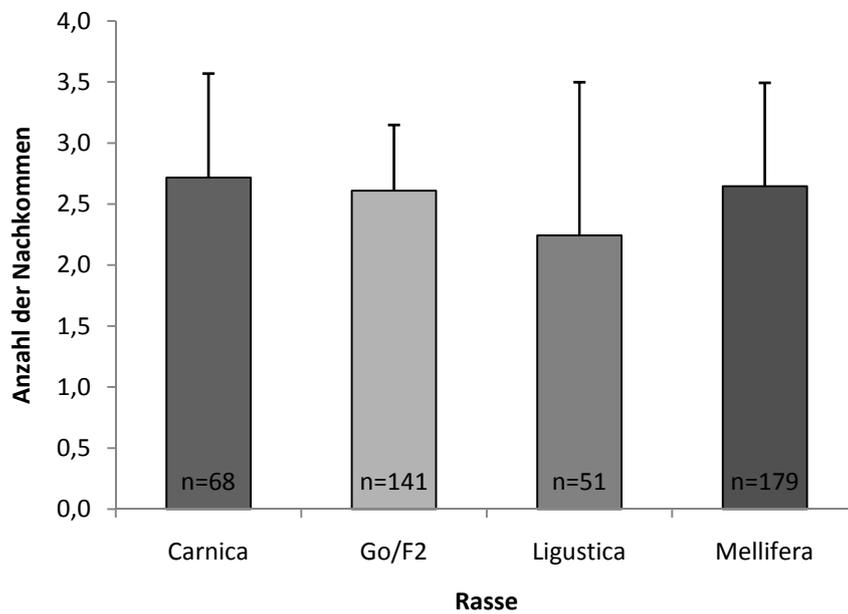


Abbildung 17: Anzahl der Nachkommen Drohnen Einzelbefall (Stadium bw)

Tabelle 10: Mittelwerte Anzahl der Nachkommen Drohnen (Stadium bw)

Mittelwerte					
Messvariable: Durchschnitt					
gruppiert nach: Rasse					
und nach: ----					
	N	Mittelwert	95% Vertrauen (±)	Std.Fehler	Std.Abw.
Carnica	3	2,717	2,118	0,492	0,853
Go/F2	5	2,610	0,669	0,241	0,539
Ligustica	4	2,243	2,000	0,628	1,257
Mellifera	7	2,646	0,784	0,321	0,848
gesamte Stichprobe	19	2,563	0,397	0,189	0,824

**Tabelle 11:** Varianzanalyse Anzahl der Nachkommen Drogen (Stadium bw)

<b>Varianzanalyse</b>					
<b>Messvariable:</b> Durchschnitt					
<b>gruppiert nach:</b> Rasse					
	<b>Quadrat- summe</b>	<b>Freiheits- grade</b>	<b>mittlere QS</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>Zwischen</b>	0,541	3	0,180	0,232	0,873
<b>Innerhalb</b>	11,670	15	0,778		
<b>Gesamt</b>	12,210	18	0,678		
Bartlett-Test zur Varianzgleichheit					
	<b>Chi- Quadrat</b>	<b>Freiheits- grade</b>	<b>P</b>		
	2,141	3	0,544		
Multiple Vergleiche					
<b>Methode:</b> Bonferroni			<b>Signifikanz</b> (p): 0,05		
Kritische Mittelwert-Differenzen zwischen Gruppenpaaren (rechts oben) und Signifikanzwertung (links unten):					
	<b>(Mittelwert)</b>	<b>Ligustica</b>	<b>Go/F2</b>	<b>Mellifera</b>	<b>Carnica</b>
<b>Ligustica</b>	2,243	----	1,797	1,679	2,045
<b>Go/F2</b>	2,610	nein	----	1,568	1,956
<b>Mellifera</b>	2,646	nein	nein	----	1,848
<b>Carnica</b>	2,717	nein	nein	nein	----

### 9.1.3 Fertilität Arbeiterinnen

Tabelle 12: Fertilität Arbeiterinnen Einzelbefall

Volk	Rasse	Repro. (+)	Kot a. P.	Zellen	Zellen (+)	Absolut (+)
1001	Gotland	76,5	17,6	34	26	0,76
203	Gotland	96,2	3,9	26	25	0,96
601	Gotland	83,4	26,6	30	25	0,83
901	Gotland	96,7	6,7	30	29	0,97
206	Gotland	100,0	0,0	30	30	1,00
702	Gotland	88,0	12	25	21	0,84
127	Go/F2	90,0	3,3	30	27	0,90
253	Go/F2	76,6	0,0	30	23	0,77
94	Go/F2	83,3	3,3	30	25	0,83
130	Go/F2	59,9	6,7	30	18	0,60
31	Mellifera	100,0	0,0	31	31	1,00
30	Mellifera	69,9	3,3	30	21	0,70
291	Mellifera	96,7	0,0	30	29	0,97
250	Carnica	80,0	6,7	30	24	0,80
291	Carnica	83,3	6,7	30	25	0,83
400	Carnica	83,3	0,0	30	25	0,83
354	Ligustica	96,7	3,3	30	29	0,97
20	Ligustica	96,7	3,3	30	29	0,97
325	Ligustica	90,0	0,0	30	27	0,90
22	Ligustica	100,0	0,0	30	30	1,00

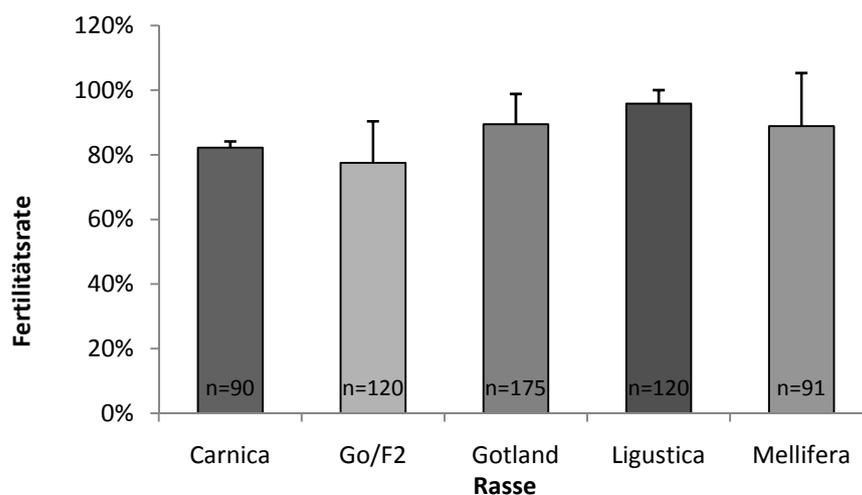


Abbildung 18: Fertilität Arbeiterinnen Einfachbefall

**Tabelle 13:** Mittelwerte Fertilität Arbeiterinnen Einzelbefall

<b>Mittelwerte</b>					
<b>Messvariable:</b> Absolut (+)					
<b>gruppiert nach:</b> Rasse					
<b>und nach:</b> ----					
	<b>N</b>	<b>Mittelwert</b>	<b>95% Vertrauen (±)</b>	<b>Std.Fehler</b>	<b>Std.Abw.</b>
Carnica	3	0,8222	0,0478	0,0111	0,0192
Go/F2	4	0,7750	0,2049	0,0644	0,1287
Gotland	6	0,8944	0,0989	0,0385	0,0942
Ligustica	4	0,9583	0,0667	0,0210	0,0419
Mellifera	3	0,8889	0,4085	0,0949	0,1644
gesamte Stichprobe	20	0,8716	0,0518	0,0248	0,1107

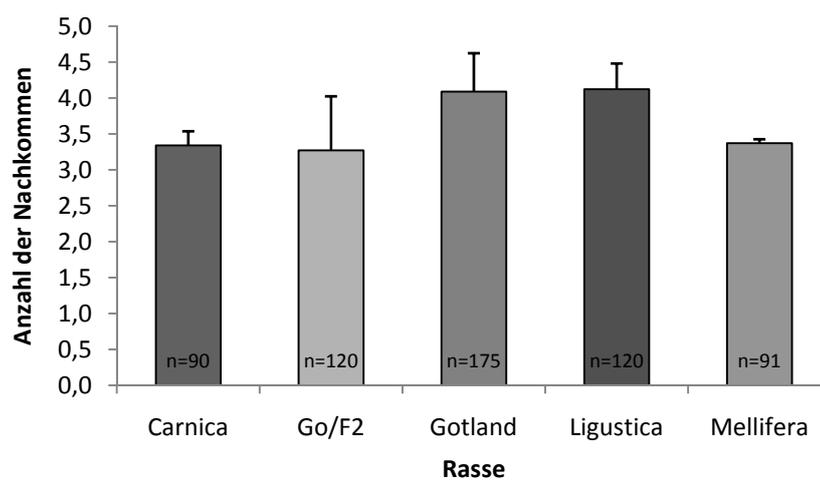
**Tabelle 14:** Varianzanalyse Fertilität Arbeiterinnen Einfachbefall

<b>Varianzanalyse</b>						
<b>Messvariable:</b> Absolut (+)						
<b>gruppiert nach:</b> Rasse						
	<b>Quadrat- summe</b>	<b>Freiheits- grade</b>	<b>mittlere QS</b>	<b>F</b>	<b>P</b>	
<b>Zwischen</b>	0,079	4	0,020	1,915	0,160	
<b>Innerhalb</b>	0,154	15	0,010			
<b>Gesamt</b>	0,233	19	0,012			
Bartlett-Test zur Varianzgleichheit						
	<b>Chi- Quadrat</b>	<b>Freiheits- grade</b>	<b>P</b>			
	8,095	4	0,088			
Multiple Vergleiche						
<b>Methode:</b> Bonferroni			<b>Signifikanz</b> (p): 0,05			
Kritische Mittelwert-Differenzen zwischen Gruppenpaaren (rechts oben) und Signifikanzwertung (links unten):						
	<b>(Mittelwert)</b>	<b>Go/F2</b>	<b>Carnica</b>	<b>Mellifera</b>	<b>Gotland</b>	<b>Ligustica</b>
<b>Go/F2</b>	0,775	----	0,254	0,254	0,215	0,236
<b>Carnica</b>	0,822	nein	----	0,272	0,236	0,254
<b>Mellifera</b>	0,889	nein	nein	----	0,236	0,254
<b>Gotland</b>	0,894	nein	nein	nein	----	0,215
<b>Ligustica</b>	0,958	nein	nein	nein	nein	----

### 9.1.4 Anzahl der Nachkommen Arbeiterinnen

**Tabelle 15:** Anzahl der Nachkommen Arbeiterinnen (Stadium bb2)

Volk	Rasse	Muttermilben	NK	Durchschnitt
1001	Gotland	21	98	4,7
203	Gotland	23	79	3,4
601	Gotland	25	99	4,0
901	Gotland	28	98	3,5
206	Gotland	25	111	4,4
702	Gotland	19	86	4,5
127	Go/F2	20	78	3,9
253	Go/F2	15	59	3,9
94	Go/F2	12	33	2,8
130	Go/F2	16	40	2,5
31	Mellifera	26	86	3,3
30	Mellifera	21	71	3,4
291	Mellifera	31	106	3,4
250	Carnica	4	14	3,5
291	Carnica	25	78	3,1
400	Carnica	20	68	3,4
354	Ligustica	20	82	4,1
20	Ligustica	22	102	4,6
325	Ligustica	21	81	3,9
22	Ligustica	18	70	3,9



**Abbildung 19:** Anzahl der Nachkommen Arbeiterinnen (Stadium bb2)

**Tabelle 16:** Mittelwerte Anzahl der Nachkommen Arbeiterinnen (Stadium bb2)

<b>Mittelwerte</b>					
<b>Messvariable:</b> Durchschnitt					
<b>gruppiert nach:</b> Rasse					
<b>und nach:</b> ----					
	<b>N</b>	<b>Mittelwert</b>	<b>95% Vertrauen (±)</b>	<b>Std.Fehler</b>	<b>Std.Abw.</b>
Carnica	3	2,717	2,118	0,492	0,853
Go/F2	5	2,610	0,669	0,241	0,539
Ligustica	4	2,243	2,000	0,628	1,257
Mellifera	7	2,646	0,784	0,321	0,848
gesamte Stichprobe	19	2,563	0,397	0,189	0,824

**Tabelle 17:** Varianzanalyse Anzahl der Nachkommen Arbeiterinnen (Stadium bb2)

<b>Varianzanalyse</b>					
<b>Messvariable:</b> Durchschnitt					
<b>gruppiert nach:</b> Rasse					
	<b>Quadrat- summe</b>	<b>Freiheits- grade</b>	<b>mittlere QS</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>Zwischen</b>	0,541	3	0,180	0,232	0,873
<b>Innerhalb</b>	11,670	15	0,778		
<b>Gesamt</b>	12,210	18	0,678		
Bartlett-Test zur Varianzgleichheit					
	<b>Chi- Quadrat</b>	<b>Freiheits- grade</b>	<b>P</b>		
	2,141	3	0,544		
Multiple Vergleiche					
<b>Methode:</b> Bonferroni			<b>Signifikanz</b> (p): 0,05		
Kritische Mittelwert-Differenzen zwischen Gruppenpaaren (rechts oben) und Signifikanzwertung (links unten):					
	<b>(Mittelwert)</b>	<b>Ligustica</b>	<b>Go/F2</b>	<b>Mellifera</b>	<b>Carnica</b>
<b>Ligustica</b>	2,242	----	1,797	1,679	2,045
<b>Go/F2</b>	2,609	nein	----	1,568	1,956
<b>Mellifera</b>	2,645	nein	nein	----	1,848
<b>Carnica</b>	2,717	nein	nein	nein	----

**Tabelle 18:** Nachkommenvergleich Arbeiterinnen u. Drohnen Go/F2 (U-Test)

<b>U-Test (Mann-Whitney)</b>			
	<b>N</b>	<b>Nachkommen Rangmittel</b>	<b>U</b>
<i>Geschlecht</i>			
Arbeiterin	30	8	22
Drohn	11	15	99
	<b>Z</b>	<b>P</b>	
	-2,7146	0,0066	

## 9.2 Einsetzversuche

### 9.2.1 Aktivierung der Reproduktion

**Tabelle 19:** Aktivierung der Reproduktion

Volk	Rasse	Zeit	Repro. (+)	Repro. (-)	Kot a. P.	Zellen ges.	Abs. (-)	Abs. (Kot)
291	A. m. carnica	0h	25	5	4	30	0,167	0,133
250	A. m. carnica	6h	21	9	2	30	0,300	0,067
291	A. m. carnica	12h	16	12	4	28	0,429	0,143
291	A. m. carnica	18h	15	18	8	33	0,545	0,242
250	A. m. carnica	24h	2	28	15	30	0,933	0,500
263	A. m. carnica	30h	1	30	11	31	0,968	0,355

**Tabelle 20:** Spearman Rangkorrelation Reproduktion Kot a. P.

Spearman Rangkorrelation	
	<b>Absolut (-)</b>
<b>Absolut (Kot)</b>	
Korrelationskoeffizient	0,8857
gültige Fälle	6
einseitige Signifikanz	0,0094

## 9.2.2 Einsetzen mit larvalen Duftstoffen

Tabelle 21: Mittelwerte Einsetzen mit larvalen Duftstoffen

Mittelwerte					
Messvariable: Reproduktion (+)					
gruppiert nach: Gruppe					
	N	Mittelwert	95% Vertrauen (±)	Std.Fehler	Std.Abw.
5 Leq	24	0,375	0,209	0,101	0,495
Kontrolle	26	0,038	0,079	0,038	0,196
gesamte Stichprobe	50	0,200	0,115	0,057	0,404

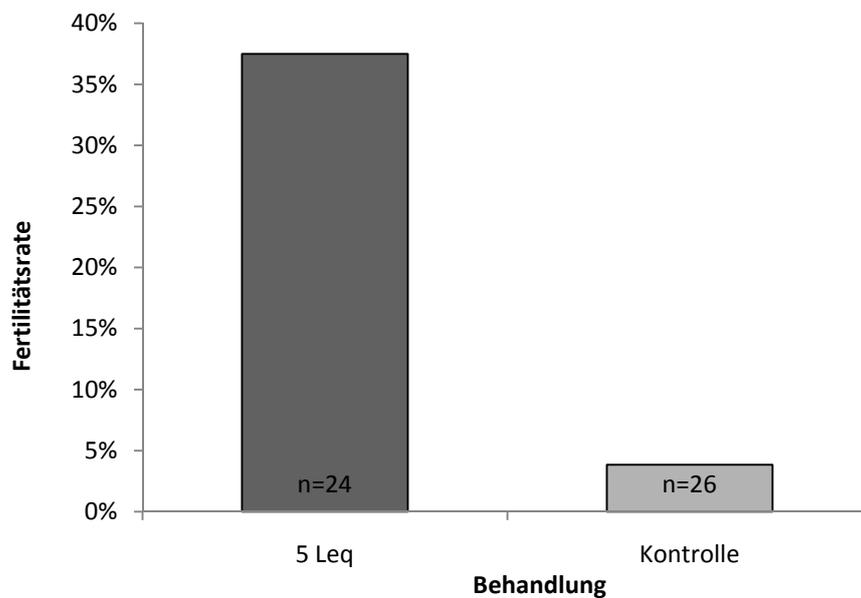


Abbildung 20: Einsetzvergleich Duftstoff u. Kontrolle

**Tabelle 22:** Mann-Whitney-U-Test Einsatzversuch Duftstoff

<b>U-Test (Mann-Whitney)</b>			
<i>Gruppe</i>	<b>Reproduktion (+)</b>		
	<b>N</b>	<b>Rangmittel</b>	<b>U</b>
5 Leq	24	29,875	417
Kontrolle	26	21,462	207
	<b>Z</b>	<b>P</b>	
	-2,942	0,0033	